

CHARAKTERISIERUNG POTENTIELLER
BIOMATERIALIEN FÜR DEN PARODONTALEN
KNOCHENERSATZ HINSICHTLICH
BIOMECHANISCHER, ANTIBAKTERIELLER UND
ZYTOTOXISCHER EIGENSCHAFTEN

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Stefan Dietsch

geboren am 30.10.1986 in Bad Salzungen

Gutachter:

1. Univ.-Prof. Dr. Dr. Bernd W. Sigusch, Jena
2. Prof. Dr. Eike Glockmann, Jena
3. Prof. Dr. Volker Albrecht, Nuthetal Bergholz-Rehbrücke

Tag der öffentlichen Verteidigung:

26. 08. 2013

Abkürzungsverzeichnis

A. actinomycetem-comitans	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
BioM1	Biomaterial 1
BioM2	Biomaterial 2
β-TCP	β-Trikalziumphosphat
CQ	Campherchinon
DEABE	Dimethylaminobenzoessäureethylester
DMA	Dynamisch Mechanische Analyse
E-Modul	Elastizitätsmodul in MPa
EDBA	Ethyl-4-Dimethylaminobenzoat
E. faecalis	Enterococcus faecalis
FDA	Fluoresceindiacetat
F. nucleatum	Fusobacterium nucleatum
KBE	Kolonie bildende Einheiten
mTHPC	Temoporfin
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazoliumbromid
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDT	Photodynamische Therapie
P. gingivalis	Porphyromonas gingivalis
P. intermedia	Prevotella intermedia
PS	Photosensitizer
RAP	regional accelerated phenomenon
S. aureus	Staphylococcus aureus
SBF	simulated body fluid
T. forsythia	Tannerella forsythia
tanδ	Tangens Delta Methode
Tg	Glasübergangstemperatur
T. denticola	Treponema denticola
UDMA	Urethandimethacrylat

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	
2.1 Einführung in die Thematik	3
2.2 Biomechanische Eigenschaften des Parodonts und des umgebenden Knochens	3
2.3 Lokale und systemische Auswirkungen parodontaler Infektionen	5
2.4 Aktuelle Therapiemöglichkeiten	7
3 Ziele der Arbeit	14
4 Material und Methoden	
4.1 Materialien	16
4.1.1 Biomaterial 1	16
4.1.2 Biomaterial 2	17
4.1.3 Photosensitizer	18
4.2 Biomechanische Eigenschaften	
4.2.1 Prüfkörperherstellung	19
4.2.2 Druckversuch bis zur Prüfkörperzerstörung	19
4.2.3 Drei-Punkt-Biegeversuch	20
4.2.4 Glasübergangstemperatur	21
4.3 Biokompatibilität	
4.3.1 MTT-Test	21
4.3.2 Live/dead-Test	22
4.3.3 Test zum Abbau der Materialien	22
4.4 Antibakterielle Wirksamkeit	23
4.5 Statistische Analyse	24
5 Ergebnisse	
5.1 Biomechanische Eigenschaften	
5.1.1 Eigenstabilität	25
5.1.2 Elastizität	26

5.1.3 Biegefestigkeit	27
5.1.4 Glasübergangstemperatur	28
5.2 Biokompatibilität	
5.2.1 MTT-Test	29
5.2.2 Live/dead-Test	30
5.2.3 Test zum Abbau der Materialien	31
5.3 Antibakterielle Wirksamkeit	33
6 Diskussion	35
7 Schlussfolgerungen	47
8 Literaturverzeichnis	48
9 Anhang	
9.1 Signifikanzen der Testungen zu den biomechanischen Eigenschaften	
9.1.1 Bruchkraft	59
9.1.2 E-Modul	59
9.1.3 Biegefestigkeit	60
9.2 Signifikanzen der Testungen zur antibakteriellen Wirksamkeit	
9.2.1 P. gingivalis (0 J/cm ²)	60
9.2.2 P. gingivalis (1 x 100 J/cm ²)	61
9.2.3 P. gingivalis (2 x 100 J/cm ²)	61
9.2.4 E. faecalis (0 J/cm ²)	62
9.2.5 E. faecalis (1 x 100 J/cm ²)	62
9.2.6 E. faecalis (2 x 100 J/cm ²)	63
9.3 Tabellarischer Lebenslauf	64
9.4 Danksagung	65
9.5 Ehrenwörtliche Erklärung	66

1 Zusammenfassung

Die Parodontitis ist eine durch parodontopathogene Bakterienspezies verursachte entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates und des umgebenden Knochens. Im Rahmen aktueller Therapieansätze nimmt die Regeneration des Knochengewebes eine zentrale Stellung ein.

Ziel der vorliegenden Studie war die Entwicklung eines synthetischen Biomaterials zum parodontalen Knochenersatz. An dieses Material ergeben sich besondere Anforderungen hinsichtlich der biomechanischen, zytotoxischen und antibakteriellen Eigenschaften. In enger Zusammenarbeit mit der Innovent Technologieentwicklung e.V. wurden zunächst verschiedene Biomaterialien, basierend auf Urethanmethacrylaten, Polyesterurethanmethacrylaten, Urethantrimethacrylaten, methacrylierten Oligolactonen und Urethandimethacrylaten entwickelt und in einem Auswahlverfahren hinsichtlich der Eignung getestet.

Die beiden Biomaterialien mit den optimalsten Eigenschaften konnten in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich ihrer biomechanischen, zytotoxischen und antibakteriellen Eigenschaften charakterisiert werden. Das Biomaterial 1 (BioM1) auf Polyurethanmethacrylatbasis benötigt keinen Vernetzer. Das Biomaterial 2 (BioM2) hingegen besteht aus Polyesterurethantrimethacrylat und 20 Ma% Urethanmethacrylat zur Vernetzung. In beiden Fällen wurde Campherchinon (CQ) in Kombination mit Diethylaminobenzoessäureethylester (DEABE) als Photoinitiationssystem verwendet. Die mechanischen Kennwerte konnten mit Hilfe des Drei-Punkt-Biegeversuches und des Druckversuches bis zur Prüfkörperzerstörung ermittelt werden.

Durch den zuerst genannten Test wurde die Biegefestigkeit bestimmt. Die Untersuchung erfolgte mit quaderförmigen Prüfkörpern. Der Druckversuch wurde mit zylindrischen Prüfkörpern durchgeführt und diente der Bestimmung von Bruchkraft und Elastizitäts-Modul (E-Modul). Die Analyse der Zytotoxizität erfolgte mit dem MTT-Test. Dazu wurden Probekörper der genannten Materialien mit einem Zellkulturmedium überschichtet und Eluate vom 1. bis 7. Tag sowie am 14., 21. und 28. Tag gewonnen. Anschließend erfolgte eine Kultivierung von MC3T3-Zellen mit diesen Extrakten für 48 Stunden bei 37°C und einem 5% CO₂-Partialdruck. Im Anschluss wurde die Zellvitalität mit dem MTT-Test ermittelt. Die In-vitro-

Biokompatibilität konnte durch direkte Inkubation von MC3T3-Zellen auf den Biomaterial-Probekörpern (4d) bestimmt werden. Die Analyse erfolgte durch Vitalfärbungen mit Fluoresceindiacetat (FDA) und GelRed® sowie anschließender fluoreszenz-mikroskopischer Auswertung. Die Effizienz des antibakteriellen photodynamischen Effektes konnte für die Spezies *P. gingivalis* und *E. faecalis* ermittelt werden. Der für diesen Effekt notwendige Photosensitizer Temoporfin (mTHPC) wurde von der Firma Biolitec AG Jena bereitgestellt. Zunächst erfolgte die Photopolymerisation der Biomaterialien und die Übersichtung mit den oben genannten Bakterienspezies. Die Bestrahlung wurde mit einem GaAs Diodenlaser Ceralas PDT der Wellenlänge 652 nm (Biolitec AG Jena) für $1 \times 100 \text{ J/cm}^2$ und $2 \times 100 \text{ J/cm}^2$ durchgeführt. Der Wirksamkeitsnachweis konnte nach dem Ausplattieren von Verdünnungsreihen auf Schaedleragar und anschließender Analyse der Kolonie bildenden Einheiten (KBE) durchgeführt werden.

Es wurde zunächst festgestellt, dass die Bruchfestigkeit für beide Biomaterialien im etwa gleichen Bereich lag und durch Zugabe des Photosensitizers nicht signifikant beeinflusst wurde. Allerdings verringerten sich mit der Kopplung des Temoporfins an BioM1 der E-Modul und tendenziell auch die Biegefestigkeit. Generell zeigte BioM1 aber eine höhere Biegefestigkeit als BioM2.

Die während der Zytotoxizitätsbestimmung inkubierten MC3T3-Zellen wiesen über den gesamten Zeitraum hinweg durchgehend eine hohe Zellaktivität von nahezu 100% auf. Ein zytotoxisches Potential der Eluate konnte nicht beobachtet werden. Die Photosensitizer-gekoppelten Biomaterialien führten nach Laserbestrahlung zu einer signifikanten Senkung der KBE/ml sowohl von *P. gingivalis* (5 log-Schritte) als auch *E. faecalis* (3 log-Schritte). Außerdem war eine antibakterielle Wirksamkeitssteigerung nach zweimaliger Bestrahlung zu beobachten.

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass die guten biomechanischen Eigenschaften der getesteten Materialien eine schnelle kaufunktionelle Belastung ermöglichen. Ein zytotoxisches Potential kann nahezu ausgeschlossen werden. Die Kopplung der Biomaterialien mit dem Photosensitizer führt im Rahmen der photodynamischen Therapie zu einem signifikanten antibakteriellen Effekt. Allerdings müssen die erfolgversprechenden Ergebnisse noch in vivo evaluiert werden.

2 Einleitung

2.1 Einführung in die Thematik

Die Parodontitis ist eine durch parodontopathogene Bakterien hervorgerufene entzündliche Erkrankung des Parodontiums, die mit der Zerstörung des Zahnhalteapparates einhergeht und sich klinisch als Taschenbildung manifestiert. Infolge der bakteriellen Besiedelung kommt es im Verlauf der Erkrankung auch zur Resorption des Alveolarknochens. Diese Prozesse führen letztlich zu Zahnlockerungen und Zahnverlusten (Sigusch et al. 2005, Chen et al. 2010), die für den jeweiligen Patienten erhebliche kaufunktionelle und ästhetische Einbußen bedeuten.

Die Daten der Vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie 2006 belegen einen deutlichen Anstieg entzündlicher Parodontalerkrankungen. Demzufolge leiden 52,7% der 35- bis 44-Jährigen an einer mittelschweren sowie 20,5% an einer schweren Verlaufsform der Parodontitis. In besonderem Maße ist die Altersgruppe der Senioren betroffen. Hier weisen 48,0% eine mittelschwere und 39,8% eine schwere Parodontitis auf. Darüber hinaus wird auch bei 13,4% der Jugendlichen ein derartiges Krankheitsbild diagnostiziert (Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV), Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung und Bundeszahnärztekammer, 2006).

Das Ziel einer kausalen Therapie ist die vollständige Beseitigung der bakteriellen Infektion mit einer anschließenden kaufunktionellen und ästhetischen Rehabilitation des Patienten.

2.2 Biomechanische Eigenschaften des Parodonts und des umgebenden Knochens

Der Zahnhalteapparat ist ein komplex aufgebautes Gefüge, das sich aus der Gingiva, dem Wurzelzement, dem angrenzenden Alveolarfortsatz sowie dem Desmodont zusammensetzt. Die Aufgabe des Parodonts besteht in der suffizienten Befestigung des Zahnes in seinem Alveolarfach und insbesondere in der Absorption auftretender Kaukräfte. Die Angaben über die Höhe dieser Kräfte variieren zwischen 10 N und

1700 N in starker Abhängigkeit von den angewendeten Messmethoden (Koc et al. 2010).

Es besteht eine Korrelation zur Ausprägung der anatomischen Strukturen wie dem Kieferwinkel, dem Verhältnis vorderer zu hinterer Gesichtshöhe und des Querschnitts der Kaumuskulatur. Zudem stellten Koc et al. (2010) eine Abhängigkeit zum Alter fest. So nimmt die maximale Kraft im Kindesalter kontinuierlich zu, erreicht im jugendlichen Alter ihr Maximum und sinkt anschließend wieder ab.

Darüber hinaus besitzen männliche Individuen aufgrund der größeren Muskelmasse eine gesteigerte mastikatorische Kraft (Calderon et al. 2006). Männer erreichten Mittelwerte von 587,2 N, während der Wert für die Frauen bei lediglich 424,2 N lag.

Um eine durch diese Kräfte auftretende Druckresorption des Alveolarknochens zu vermeiden, ergibt sich ein besonderer anatomischer Aufbau des Desmodonts. Es besteht aus kollagenen, spiralförmig (Oka et al. 1989) angeordneten Faserzügen, den so genannten Sharpey-Fasern. Durch diese Anordnung wird eine federnde Aufhängung des Zahnes mit der daraus resultierenden physiologischen Eigenbeweglichkeit ermöglicht. Die biomechanische Konsequenz ist eine Umwandlung der auftretenden, knochenresorbierenden Druckkraft in eine knochenerhaltende Zugkraft. Dies erfolgt hauptsächlich in den marginalen Abschnitten des Desmodonts, während Zugkräfte in Nähe des Apex eliminiert werden (Tanne et al. 1998).

Ermöglicht werden diese Funktionen durch eine hohe Elastizität des Faserapparates. Daher resultieren für dieses Gewebe E-Module von 0,1 bis 1,0 GPa im Bereich des Alveolarknochens und 0,1 bis 0,6 GPa in der Region der Zahnwurzel (Ho et al. 2010).

Auch Ziegler et al. (2005) schätzen den hohen E-Modul als eine besondere biomechanische Eigenschaft dieses viskoelastischen Gewebes ein. Tanne et al. (1998) stellten fest, dass die Elastizität mit zunehmendem Alter abnimmt. Mögliche Ursachen dafür sind die fortschreitende Organisation der kollagenen Faserzüge sowie die Kalzifizierung des umliegenden Knochens mit zunehmendem Alter.

Diese Autoren stellten weiterhin fest, dass durch jene biomechanischen Eigenschaften des Desmodonts die Biomechanik des Knochens während der Zahnbewegungen nicht beeinflusst wird. Dieser besitzt einen wesentlich höheren E-Modul von 0,2 bis 9,6 GPa (Ho et al. 2010) und ist somit deutlich unflexibler.

Während der vornehmlich starre Oberkiefer mit dem Gesichtsschädel fest verbunden ist, nimmt der Unterkiefer eine zentrale Stellung in der Dynamik des mastikatorischen Systems ein und ist während seiner Bewegungen zahlreichen Kräften unterschiedlicher Angriffsrichtung ausgesetzt (Van Eijden 2000, Koolstra 2002). Die daraus resultierenden Torsionen, Kompressionen und Biegungen erfordern besondere biomechanische Eigenschaften speziell hinsichtlich der Elastizität (Dechow et al. 1993).

2.3 Lokale und systemische Auswirkungen parodontaler Infektionen

Die Parodontopathien werden entsprechend des International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions 1999 klassifiziert (Armitage 1999). Von klinischer Bedeutung für die Parodontitis sind vor allem die 2. und 3. Hauptgruppe dieser Klassifikation. Die Gruppe 2 steht für die chronische Parodontitis. Diese meist plaqueassoziierte entzündliche Erkrankung des Parodonts betrifft zunächst vor allem die marginalen Anteile. Sie ist häufig auf eine unzureichende Mundhygiene zurückzuführen und wird klinisch zusammen mit einer Begleitgingivitis diagnostiziert. Infolge relativ langsamer, meist schubweise verlaufender Progression kommt es im Spätstadium auch zu Zahnlockerungen, die auf den meist horizontalen Knochenabbau zurückzuführen sind. Die Hauptgruppe 3 der genannten Klassifikation beschreibt das Krankheitsbild der aggressiven Parodontitis. Typisch sind bei dieser Parodontitisform die familiäre Häufung sowie nicht selten eine Erstmanifestation in den jüngeren Lebensjahren. Charakteristisch ist eine relativ rasche Destruktion des Alveolarknochens mit der Bildung vertikaler Knochendefekte.

Die Ursache für die fortschreitende Gewebeerstörung einer entzündlichen parodontalen Erkrankung sind in jedem Fall parodontopathogene Bakterien. Die bakterielle Flora der chronischen Parodontitis wird durch die typischen Spezies F.

nucleatum, *P. intermedia*, *T. denticola* sowie *P. gingivalis* charakterisiert. Bei der aggressiven Verlaufsform wird meist zusätzlich *A. actinomycetemcomitans* nachgewiesen, der als Leitkeim dieser Erkrankung gilt.

Die Spezies *P. gingivalis* hat einen wesentlichen Einfluss auf das Voranschreiten der parodontalen und ossären Destruktion. Die Penetration in das Gewebe wird durch Fimbrien unterstützt (Meka et al. 2010). Speziell diese Spezies hat ein sehr großes Potential an die Wurzeloberfläche zu binden und die Aggregation anderer Bakterien sowie die damit verbundene Biofilm-Organisation zu fördern (Sun et al. 2012). Dieses begünstigt letztlich das Fortschreiten der parodontalen Läsion. Danach erfolgt die Induktion einer entzündlichen Reaktion durch die Ausschüttung verschiedener Entzündungsmediatoren. Die Lipopolysaccharide verursachen eine direkte Stimulation der ortständigen Osteoklasten. Die Gesamtheit dieser Pathomechanismen resultiert letztlich in einer verstärkten Destruktion des betroffenen Knochenareals.

E. faecalis ist die am häufigsten isolierte Bakterienspezies des infizierten Wurzelkanals. Die Mikroorganismen können das parodontale Gewebe über das endodontische Kanalsystem erreichen und durch die Virulenzfaktoren Cytolysin sowie Gelatinase inflammatorische Reaktionen induzieren und aufrechterhalten (Sun et al. 2012). Die Folgen dieser Prozesse sind lokale Weich- und Hartgewebsdestruktionen mit dem klinischen Bild der periapikalen Läsion und auch periapikalen Abszessen. Durch die Fähigkeit der Koaggregation mit *F. nucleatum* und die Inaktivierung neutrophiler Granulozyten kann diese Spezies auch eine Rolle in der Pathogenese der therapierefraktären chronischen Parodontitiden spielen (Balaei-Gajan et al. 2010). In diesem Zusammenhang stellt die Produktion von β -Lactamase und die damit verbundene Antibiotikaresistenz gegenüber Penicillinen durch diese Bakterienspezies einen wichtigen Problempunkt dar.

Im Anschluss an die lokale Gewebsdestruktion kann es im späten Stadium unter anderem auch traumatisch bedingt (Zähneputzen) zur systemischen Ausbreitung der parodontopathogenen Bakterienspezies beziehungsweise entsprechender proinflammatorischer Zytokine kommen. Aus diesem Grunde wird das Krankheitsbild der Parodontitis zunehmend auch im Kontext verschiedener systemischer Erkrankungen diskutiert. Eine wichtige bidirektionale Wirkung besteht zum Diabetes

mellitus (Nagasawa et al. 2010, Choi et al. 2011, Jepsen et al. 2011) und auch zum Gestationsdiabetes (Xiong et al. 2009).

Mehrere Autoren beschreiben zudem Zusammenhänge zur Entstehung von artherosklerotischer Plaque (Padilla et al. 2006, Yao et al. 2009) und den damit verbundenen Krankheitsbildern wie Myokardinfarkt (Emingil et al. 2000) und Schlaganfall (Pradeep et al. 2010). In jüngster Zeit wird die Parodontitis auch im Zusammenhang mit der Demenzentstehung diskutiert (Rai et al. 2010).

2.4 Aktuelle Therapiemöglichkeiten

Da ein entzündungsfreies Parodont die unabdingbare Voraussetzung für jede konservierend-prothetische Versorgung ist, nimmt die Parodontitistherapie insgesamt einen hohen Stellenwert ein. Alle therapeutischen Bestrebungen verfolgen das Ziel, die bakterielle Infektion und die daraus resultierende Entzündung zu beseitigen, um nachfolgend möglichst ein Reattachement erreichen zu können. Es stehen chirurgische und nicht-chirurgische Techniken zur Verfügung, wobei speziell die Bedeutung der minimalinvasiven Therapieformen stetig zunimmt.

Eine erfolgreich angewendete Methode stellt die 2-Schritt-Therapie dar (Sigusch et al. 2005). Im ersten Schritt erfolgt durch Scaling, Wurzelglättung und Politur der Zahnflächen die Beseitigung der Entzündung. Der zweite Therapieschritt umfasst die verstärkte Wurzelglättung und die adjuvante systemische Antibiotikagabe mit dem Ziel der Entfernung bakteriell infizierten Gewebes.

Die häufig komplizierten anatomischen Verhältnisse im Bereich der Wurzelfurkationen sowie tiefe parodontale Taschen erlauben meist jedoch nur eine unvollständige mechanische Reinigung (de Almeida et al. 2008, Rühling et al. 2010, de Oliveira et al. 2009, Eduardo et al. 2010, Lui et al. 2011). In der Regel ist durch die mechanische Therapie allein keine vollständige Entfernung der Parodontopathogene möglich (Sigusch et al. 2001).

Der Erfolg adjuvant eingesetzter Antibiotikagaben wird allerdings durch das zunehmende Auftreten resistenter Bakterienspezies gemindert (Xu und Wei 2001, Page 2004, Meisel und Kocher 2005, Ardila et al. 2010, de Oliveira et al. 2011). Dies trifft zum Beispiel auch für *P. gingivalis* zu, was sich nachteilig auf die

Knochenregeneration auswirken kann (Loomer et al. 1994, Sigusch et al. 2001). Auch die alleinige antibiotische Behandlung ohne mechanische Therapie ist durch die Organisation der Mikroorganismen zu einem Biofilm nicht in der Lage, zufrieden stellende Langzeitergebnisse zu liefern. Die notwendig zu applizierende Dosis müsste deutlich höher ausfallen und würde eine zulässige Körperdosis überschreiten. Die systemische Gabe der Antibiotika wie Doxycyclin, Clindamycin oder Metronidazol kann zusätzlich zu zahlreichen Nebenwirkungen führen (Malik et al. 2010).

Aus den genannten Gründen ergibt sich die Notwendigkeit neuer antibakterieller Therapieansätze in Ergänzung zu den bisherigen nicht-invasiven Behandlungstechniken.

Einen viel versprechenden Ansatz stellt das Konzept der photodynamischen Therapie dar (König et al. 2000, Pfitzner et al. 2004, Papastamou et al. 2010, Sigusch et al. 2010, Izumi et al. 2011). Diese Methode basiert auf den nicht toxischen Bestandteilen Photosensitizer, Sauerstoff und Licht bestimmter Wellenlänge (Takasaki et al. 2009). Nach Applikation des Photosensitizers lagert sich dieser an die Zielzellen an. Durch eine anschließende Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge für ein definiertes Zeitintervall entsteht unter anderem auch Singulett-Sauerstoff. Dieser bewirkt den eigentlichen antibakteriellen Effekt durch eine direkte Zerstörung der bakteriellen DNA sowie der Inaktivierung membranständiger Enzyme und Transportsysteme. Daraus resultiert eine Zerstörung der Zytoplasmamembran mit der Folge einer Apoptose und Nekrose (Azarpazhooh et al. 2010).

Die Vorteile der photodynamischen Therapie sind vielfältig. Da der Singulett-Sauerstoff einen nur sehr geringen Reaktionsradius von 0,02 μm hat, erfolgt die Wirkung ausschließlich an der Stelle der Applikation und systemische Nebenwirkungen können vermieden werden. Die Abtötung der parodontopathogenen Spezies erfolgt bereits nach sehr kurzer Zeit. Eine Wirksamkeit dieser Methode auch gegenüber antibiotikaresistenten Stämmen konnte durch Eduardo et al. (2010) diskutiert werden. Einige Autoren stellten auch eine Effizienz gegenüber *P. gingivalis* und *E. faecalis* fest (Wilson 2004, Kranz et al. 2011). Daraus resultierte eine verringerte Knochenresorption und eine verbesserte Wundheilung (Kömerik et al. 2002, de Almeida et al. 2008, Novas Jr et al. 2011). Besonders geeignet ist dieses Verfahren auch durch seine gute Applizierbarkeit speziell in schwer zugänglichen

Bereichen (de Oliveira et al. 2009, Takasaki et al. 2009). Daher stellt diese Methode eine effiziente Ergänzung zu einer vorangegangenen mechanischen Therapie dar.

Jedoch ist eine vollständige Restitutio ad integrum vor allem bei bestehenden Resorptionen des Alveolarknochens meist nicht möglich. Hauptproblem hierbei ist das entzündete Knochenlager, das oft einer Knochenapposition entgegenwirkt (Verdugo et al. 2012).

Die alleinige Anwendung offener chirurgischer Verfahren, die auf der Präparation eines mukoperiostalen Lappens basieren, können eine gesteigerte Knochenresorption zur Folge haben (Gupta et al. 2011). Dieser als regional accelerated phenomenon (RAP) bezeichnete Prozess (Yaffe et al. 1994) betrifft hauptsächlich den Alveolarkamm und auch die interalveolären Knochenareale.

Inzwischen führt die Anwendung von Knochentransplantaten und auch synthetischen Materialien zu signifikant besseren klinischen Ergebnissen als die konservativen offenen Therapieverfahren. Derzeit existieren zahlreiche Techniken zur Regeneration des Knochenlagers. Im Wesentlichen unterscheidet man Knochentransplantate des menschlichen Körpers, wie Autografts und Allografts, von Materialien tierischen Ursprungs (Xenografts) oder synthetisch hergestellten Substanzen, den sogenannten alloplastischen Materialien (Tabelle1).

Tabelle 1: Klassifikation der Knochenersatzmaterialien nach ihrer Herkunft

Herkunft	Bezeichnung	Beschreibung
biologisch	autolog	vom selben Individuum
	allogen	von einem anderen Individuum derselben Art
	xenogen	von Individuen einer anderen Art
synthetisch	alloplastisch	Keramiken, Metalle, Polymere, Zemente
Verbundmaterialien	Kompositmaterialien	Kombination aus biologischen und synthetischen Materialien

Der Nachteil eines häufig als Goldstandard angesehenen autogenen Transplantates (Giannoudis et al. 2005) liegt jedoch in der begrenzten Verfügbarkeit (Salgado et al. 2004, Endres et al. 2005) und einem relativ starken Volumenschwund von bis zu 25% und mehr in der Heilungsphase. Bei der Implantation in ein

entzündetes Knochenlager droht als Konsequenz nicht selten die Degeneration des kompletten Transplantates. Außerdem besteht auch das Risiko einer Wundheilungsstörung an der Entnahmestelle. Insgesamt kommt es bei 8,5% bis 20% der Eingriffe zu Komplikationen (Giannoudis et al. 2005).

Bei allogenen sowie xenogenen Materialien ist eine dem Knochen entsprechende Eigenstabilität nicht immer gegeben (Nomura et al. 2005) und auch die Übertragung von Infektionskrankheiten kann nicht vollkommen ausgeschlossen werden (Salgado et al. 2004, Giannoudis et al. 2005, Dimitriou et al. 2011). Darüber hinaus können diese Materialien Immunreaktionen des Empfängerorganismus auslösen (Shegarfi und Reikeras 2009), was letztlich auch zu einer gesteigerten Resorption des Transplantates führen kann. Insgesamt betrachtet, treten bei bis zu 35% der Patienten Komplikationen auf. Die Verfahren der Gefriertrocknung und der Demineralisierung zur Reduktion der Antigenität können sich auch nachteilig auf die Struktur des jeweiligen Transplantates auswirken und so zu einer verminderten mechanischen Belastbarkeit führen (Scheller et al. 2009). Giannoudis et al. (2005) berichteten von einer Reduktion der Festigkeit um bis zu 50%. Deshalb sollten diese Materialien nur in mechanisch stabilen Bereichen zur Anwendung kommen (Nandi et al. 2010).

Ein bekanntes allogenes Material ist demineralisierte Knochenmatrix wie zum Beispiel Grafton® (BioHorizons, Birmingham, USA). Dieses Material besitzt jedoch nur eine geringe Eigenstabilität und sollte daher möglichst nicht in mechanisch beanspruchten Regionen Anwendung finden (Kolk et al. 2012).

Typisches Basismaterial xenogener Substanzen ist bovine Knochenmatrix wie bei dem vielseitig verwendeten BioOss® (Geistlich Ag, Wolhusen, Schweiz). Bei diesem Produkt stellten Ayobian-Markazi et al. in einer In-vitro-Studie 2012 allerdings eine schlechte Zelladhäsion fest und wiesen auch eine verminderte Zellproliferationsrate bei weiteren Knochenersatzmaterialien dieser Kategorie nach.

Eine Gefahr der Infektion besteht bei alloplastischen Materialien allerdings nicht. Darüber hinaus entsteht auch kein Entnahmedefekt und die Verfügbarkeit ist nahezu unbegrenzt. Einige Autoren gehen davon aus, dass synthetische Knochenersatzmaterialien an Bedeutung gewinnen werden (Salgado et al. 2004, Jandt und Sigusch 2009, Scheller et al. 2009, Nandi et al. 2010, Dimitriou et al. 2011, Shankar et al. 2011). Sie umfassen verschiedene Materialien wie Keramiken, Metalle, Polymere und Zemente (Kolk et al. 2012) (Tabelle 2).

Tabelle 2: Klassifikation alloplastischer Knochenersatzmaterialien

Klasse	Vertreter
Keramiken	synthetische Hydroxylapatite Trikalziumphosphate bioaktive Gläser Glasionomere
Metalle	Titan
Polymere	Polylaktide Polymethylmethacrylat Co-Polymere Polyglycolide
Zemente	Calciumphosphat

Das synthetische Hydroxylapatit aus der Gruppe der Keramiken findet aufgrund seiner hervorragenden osteokonduktiven Eigenschaften eine breite Anwendung als Knochenersatzmaterial. Chitsazi et al. erzielten 2011 mit dem Biomaterial Ostim® (Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) bei der Therapie zwei- und dreiwandiger Defekte eine dem autologen Knochentransplantat vergleichbare Erfolgsquote hinsichtlich dem Reattachement. Die Nachteile der synthetischen Hydroxylapatite liegen jedoch in der geringen Resorptionsquote und den schlechten biomechanischen Eigenschaften (Giannoudis et al. 2005, Lee et al. 2010). Besonders nachteilig sind die geringe Bruchfestigkeit sowie die niedrige Biegefestigkeit (Shin et al. 2011), weshalb beispielsweise eine stabile Schienung des betroffenen Zahnes nicht gewährleistet werden kann.

Ein weiteres aktuelles Biomaterial das β -Trikalziumphosphat ist eine resorbierbare Keramik, welche eine für die Apposition neuen Knochens optimale Matrix aufweist (Giannoudis et al. 2005). Im Vergleich mit den anderen Keramiken hat das β -Trikalziumphosphat möglicherweise bisher das größte Potential zur Knochenneubildung (Yuan et al. 2010). Die Resorption des Materials erfolgt bereits nach 12 bis 18 Monaten (Szucs et al. 2000, Zerbo et al. 2001). Ein häufig angewendetes Präparat ist Cerasorb® (Curasan AG, Kleinostheim, Deutschland). Ein mit diesem Material aufgefüllter Knochendefekt ist allerdings erst nach vier bis sechs

Monaten belastungsstabil (Szucs et al. 2000) und die ausreichende Befestigung eines bereits gelockerten Zahnes scheint mit diesem Material fragwürdig.

Die Biomaterialklasse der Polymere umfasst sowohl natürliche als auch synthetische Materialien (Nandi et al. 2010). Sie bestehen im Wesentlichen aus Polylactiden, Polymethylmethacrylat, Co-Polymeren und auch Polyglycoliden. Durch die Kombination bestimmter Polymere in einem definierten Verhältnis können die Eigenschaften entsprechend den klinischen Anforderungen modifiziert werden.

Derartige Biomaterialien finden daher bereits Anwendung in der Therapie parodontaler Knochenläsionen (Nandi et al. 2010). Ein Vertreter dieser Materialgruppe der Polymere ist das Biomaterial Bioplant® HTR® (Kerr Corporations, West Collins, USA). Es besteht aus den Substanzen Polymethylmethacrylat und Polyhydroxyethylmethacrylat. Parkash et al. konnten 2010 in einer klinischen Studie ein verbessertes Reattachement nach der Anwendung dieses Materials nachweisen. Eine immunologische Reaktion des Wirtsorganismus wurde nicht festgestellt (Grisdale 1999). Jedoch besitzt Bioplant® HTR® keine antibakterielle Wirksamkeit.

Die Kalziumphosphat-Zemente sind den Hydroxylapatit-Keramiken als Knochenersatzmaterial überlegen und zeichnen sich durch eine hervorragende Barrierefunktion aus (Rajesh et al. 2009). Besonders gut eignen sich für den parodontalen Bereich vorgemischte Zemente als Defektfüller (Sugawara et al. 2008) auch aufgrund ihrer guten Biokompatibilität (Sugawara et al. 2010). Jedoch stehen die biomechanischen Eigenschaften in starker Abhängigkeit zum verwendeten Pulver-Flüssigkeitsverhältnis. Die Biegefestigkeit von durchschnittlich 5,3 MPa bis 11 MPa steigt mit zunehmendem Pulvergehalt ebenso wie der E-Modul (Burguera et al. 2008). Allerdings verschlechtert sich damit auch gleichzeitig die Eigenschaft der Applizierbarkeit und somit die Anwendung speziell bei anatomisch komplizierten Defekten (Xu et al. 2007, Burguera et al. 2008). Zudem verzögert die Anwesenheit von Blut erheblich die Abbindezeit (Rajesh et al. 2009). Die Forderung nach einem blutleeren Operationsgebiet kann aber speziell bei minimalinvasiven Verfahren ohne direkte Sichtkontrolle nicht hinreichend gewährleistet werden.

Nachteilig für viele alloplastischen Materialien ist allerdings deren geringe Eigenstabilität nach der Implantation (Salgado et al. 2004), wodurch eine kaufunktionelle Belastung von häufig gelockerten Zähnen meist nicht möglich ist.

Die erhöhte Zahnbeweglichkeit kann aber auch die parodontale Wundheilung und das Reattachement negativ beeinflussen.

Aus diesen genannten Gründen kann man davon ausgehen, dass momentan kein adäquates Knochenersatzmaterial zur Regeneration parodontaler Defekte zur Verfügung steht (Izumi et al. 2011). Aktuelle Forschungsansätze führen zunehmend zur Entwicklung von Kompositmaterialien, welche die Vorzüge der einzelnen Materialklassen miteinander verbinden sollen.

3 Ziele der Arbeit

Der progrediente Verlauf einer schweren chronischen oder aggressiven Parodontitis führt durch die parodontalen Destruktionsprozesse häufig zu Zahnlockerungen und anschließenden Zahnverlusten. Für den Patienten kann das erhebliche funktionelle und ästhetische Einschränkungen bedeuten.

Aus diesem Grund geraten die regenerativen Maßnahmen der Parodontaltherapie zunehmend in den Focus des Kliniklers.

Ein therapeutisches Problem stellt in diesem Kontext nach wie vor auch die Suppression der parodontopathogenen Bakterien dar, die durch alleinige mechanische Therapiemaßnahmen nicht ausreichend gelingt. Mit den bisherigen Biomaterialien zum parodontalen Knochenersatz ist es meist nicht möglich, den bakteriellen Biofilm ausreichend zu supprimieren.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein synthetisches Biomaterial für den parodontalen Knochenersatz zu entwickeln, welches durch eine kombinierte PDT-Funktion auch antibakteriell wirksam ist. Dieses Material sollte gleichzeitig eine ausreichende Eigenstabilität zur zeitnahen Schienung des gelockerten Zahnes aufweisen und durch die Zugabe eines Photosensitizers einen photodynamischen Effekt im Bereich der Läsion auslösen können.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ergaben sich daher folgende Fragestellungen:

1. Welche biomechanischen Eigenschaften kennzeichnen die ausgewählten Materialien?
 - a) Besitzen die Biomaterialien eine ausreichende Eigenstabilität, um die auftretenden Kräfte zu absorbieren?
 - b) Weisen die Materialien eine den desmodontalen Fasern vergleichbare Elastizität auf?
 - c) Welche Biegefestigkeiten besitzen die Materialien?

- d) Beeinflusst der Photosensitizer die biomechanischen Eigenschaften des Materials?
2. Gehen von den ausgewählten Biomaterialien zytotoxische Effekte aus?
3. Wird durch den in den Materialien enthaltenen Photosensitizer nach Auslösung des photodynamischen Therapieeffektes eine ausreichende antimikrobielle Wirkung auf parodontopathogene Bakterien erzielt?

4 Material und Methoden

4.1 Materialien

Die Entwicklung der in der vorliegenden Untersuchung getesteten Biomaterialien erfolgte in enger Zusammenarbeit mit der Innovent Technologieentwicklung e.V. in Jena. Aus einer umfangreichen Auswahl potentiell in Frage kommender Polymere wurden zwei Materialien für besonders geeignet befunden. Zur näheren Charakterisierung erfolgten die entsprechenden biomechanischen und zellbiologischen Untersuchungen. Der für den antibakteriellen photodynamischen Effekt benötigte Farbstoff Temoporfin (mTHPC) wurde von der Biolitec AG Jena zur Verfügung gestellt.

4.1.1 Biomaterial 1

Das Basispolymer des Biomaterials 1 (BioM1) (Abbildung 1) ist Urethandimethacrylat (UDMA). Es handelt sich um ein Dimethacrylat, welches in zahnmedizinisch verwendeten Adhäsiv-Systemen bereits breite Anwendung findet. Die Ausbildung dichter Polymernetze garantiert eine hohe mechanische Festigkeit. Ein spezieller Vernetzer wird nicht benötigt. Als Photoinitiatorsystem verwendete man ein Gemisch aus Campherchinon (CQ) und Diethylaminobenzoessäureethylester (DEABE) im Verhältnis von 1:1. Dem Basispolymer wurden pro Gramm 40 µl Photoinitiator zugegeben. Unter Verwendung des Photosensitizers konnte die Menge dann auf 50 µl erhöht werden. Einer Masse von 990 mg Basispolymer wurden 10 mg Temoporfin zugemischt.

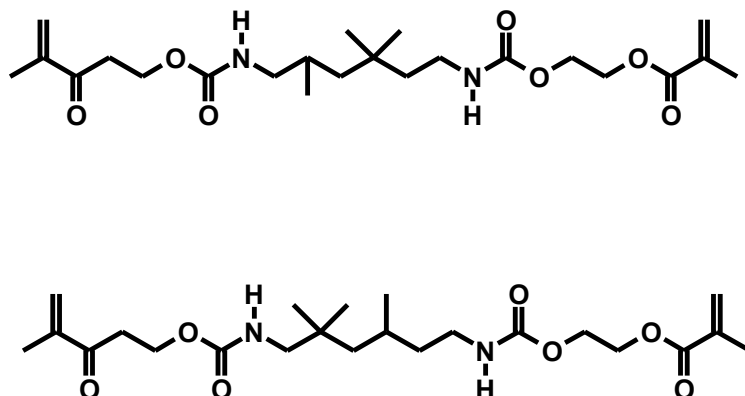


Abbildung 1: Strukturformel von BioM1

4.1.2 Biomaterial 2

Das Basismaterial des Biomaterials 2 (BioM2) ist ein Polyesterurethantrimethacrylat. Das Monomer wurde aus einer chemischen Reaktion von D,L-Laktid und Glycerin hergestellt. Die Strukturformel ist in Abbildung 2 dargestellt. Als Vernetzer dient 20 Ma% Urethanmethacrylat. Wie bei BioM1 wurde auch hier ein 1:1 Gemisch aus CQ und DEABE als Photoinitiatorsystem verwendet. Ebenso wurde dessen Menge, wie auch bei BioM1, bei Verwendung von Temoporfin, auf 50 µl pro Gramm erhöht. Für die Herstellung der Prüfkörper ohne Photosensitizer genügten 40 µl des Photoinitiatorengemisches. Es wurde derselbe Photosensitizer wie beim Material BioM1 im bestehenden Verhältnis verwendet.

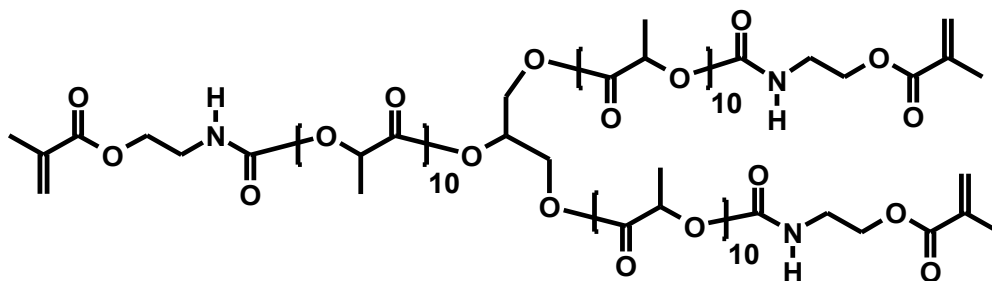
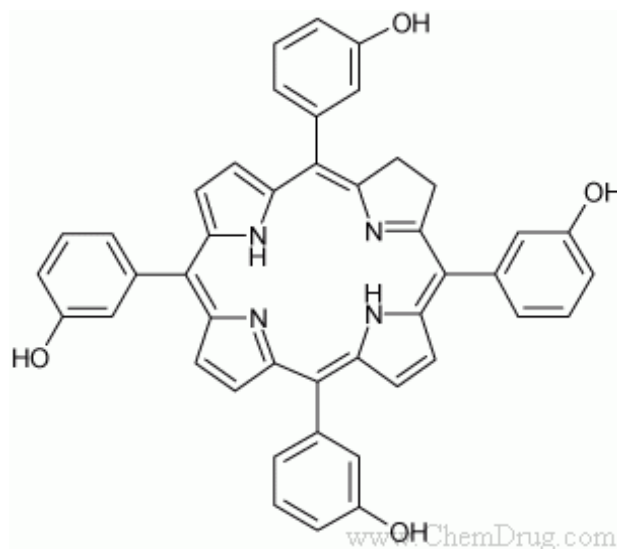


Abbildung 2: Strukturformel von BioM2

4.1.3 Photosensitizer

Zur Erzielung des antibakteriellen photodynamischen Effektes kam der Wirkstoff mTHPC (5,10,15, 20-Tetra (m-hydroxyphenyl) chlorin) zur Anwendung. Dieses Chlorin (Abbildung 3) ist ein Vertreter der zweiten Generation der Photosensitizer und wird seit Jahren erfolgreich zum Beispiel auch in der Karzinomtherapie eingesetzt. Durch seine hervorragenden Eigenschaften dient dieser Photosensitizer häufig als Referenz für neuartige Entwicklungen und gewinnt zunehmend auch in der antibakteriellen Therapie an Bedeutung. Eine maximale Wirkung wird bei einer Bestrahlung mit einer Wellenlänge von 650 nm erreicht und resultiert in der Apoptose beziehungsweise der Nekrose der Zielzelle.

Um eine gesteigerte Anbindung und Invasion an die Bakterien zu ermöglichen, erfolgte eine Kopplung von mTHPC an Nanopartikel als Trägersubstanzen. In diesem Fall wurde β -Trikalziumphosphat als Wirkstoffträger für 20 Ma% mTHCP verwendet. Außerdem konnte durch diese Trägersubstanz eine Porenbildung induziert werden.



4.2 Biomechanische Eigenschaften

4.2.1 Prüfkörperherstellung

Für jede Versuchsdurchführung wurden jeweils 15 Prüfkörper pro Biomaterial jeweils mit beziehungsweise ohne Photosensitizer hergestellt. Die unpolymersierten Substanzen konnten in Silikonformen (7 x 5 mm Druckversuch, 20 x 4 x 5 mm Drei-Punkt-Biegeversuch) gefüllt und anschließend mit einer Halogen-Lampe der Firma VOCO, Typ Profil Lux® (590 mW/cm²) belichtet werden. Zunächst wurde die Oberseite für 3 x 20 Sekunden beleuchtet und nach Entnahme der Prüfkörper aus der Form wurde auch die Unterseite in gleicher Weise behandelt. Vor der mechanischen Testung entfernte man überstehende Ränder und erfasste die Dimensionen mit einer manuellen Schieblehre.

4.2.2 Druckversuch bis zur Prüfkörperzerstörung

Die Testung der zylinderförmigen Prüfkörper erfolgte mit dem Prüfgerät Series IX Automated Materials Testing System (Instron GmbH, Darmstadt, Deutschland) bei einer Temperatur von 25°C und 50% Luftfeuchtigkeit. Der Kraft-Maximalbereich wurde auf 50,00 kN eingestellt und die Geschwindigkeit betrug 12,00 mm/min. Neben der Bruchkraft konnte mit dieser Versuchsreihe der E-Modul mit Hilfe des Hook'schen Gesetzes ermittelt werden:

$$S_{\text{Zug / Druck}} = E \cdot e$$

wobei [S] der Zug-/ Druckspannung entspricht, [E] den E-Modul darstellt und [e] für die Stauchung steht. Die Zug-/ Druckspannung lässt sich aus dem Quotienten der Kraft [F] auf eine Fläche [A] berechnen:

$$S_{\text{Zug / Druck}} = \frac{F}{A}$$

Die Stauchung [e] wird aus dem Verhältnis der Längenänderung [Δl] während der Testung zur Ausgangslänge des Prüfkörpers [l_0] ermittelt.

$$e = \frac{\Delta l}{l_0}$$

Der E-Modul ergab sich aus der Umstellung des Hook'schen Gesetzes:

$$E = \frac{A}{e}$$

4.2.3 Drei-Punkt-Biegeversuch

Diese Testung erfolgte mit dem Texture Analyser TA-XT 2i (Stable Micro Systems, Godalming, Großbritannien). Der Stützrollenabstand des HDP/ 3PB-Werkzeuges wurde auf 20 mm eingestellt. Die Temperatur betrug 25°C und die Luftfeuchtigkeit 50%. Folgende Formel diente der Berechnung:

$$B = \frac{M}{W}$$

wobei sich die Biegefestigkeit [B] aus dem Quotienten des Biegemoments [M] und dem Widerstandsmoment [W] ergibt. Das Biegemoment lässt sich wie folgt ermitteln:

$$M = \frac{F \cdot l}{4}$$

hierbei entspricht [F] der Bruchkraft und [l] der Stützweite. Das Widerstandsmoment kann mit Hilfe der folgenden Formel bestimmt werden. [a] gibt die halbe Seitenlänge an, während [h] der Höhe des Prüfkörpers entspricht.

$$W = \frac{a \cdot h^2}{6}$$

Abbildung 4 zeigt die schematische Versuchsanordnung.

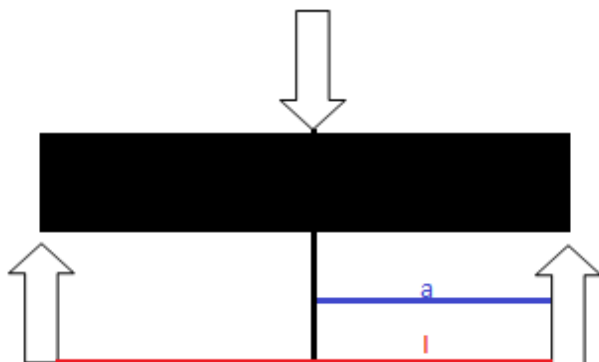


Abbildung 4: Versuchsanordnung Drei-Punkt-Biegeversuch

l = Stützweite

a = halbe Stützweite

4.2.4 Glasübergangstemperatur

Die Ermittlung der Glasübergangstemperatur (T_g) erfolgte durch die Anwendung der Dynamisch Mechanischen Analyse (DMA). Von einem zylindrischen Probekörper (5 x 7 mm) wurden circa 50 mg abgespant. Diese wurden in einen Korundtiegel überführt und anschließend vermessen. Die Messungen erfolgten mit dem Gerät DMA7e (Perkin Elmer Corporation, Norwalk, USA) in einem Temperaturbereich von -20°C bis 200°C . Die Aufheizrate wurde auf 5 K/min eingestellt. Die anschließende Evaluation der Testergebnisse erfolgte durch die Anwendung der Tangens Delta Methode ($\tan \delta$).

4.3 Biokompatibilität

4.3.1 MTT-Test

Die Zytotoxizität wurde mit Hilfe des MTT-Testes untersucht. Der wasserlösliche gelbe Farbstoff 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromid (MTT) wird durch Stoffwechselreaktionen vitaler Zellen in das wasserunlösliche violette Formazan reduziert. Dessen Menge kann dann photometrisch bestimmt werden.

Die sterilisierten Biomaterial-Probekörper (9 x 4 mm) wurden in 24-Well-Platten eingebracht und mit Zellkulturmedium (α -MEM (10% FBS, 1% PenStrep)) im Verhältnis von 200mg/ml; (Biochrom, Berlin, Deutschland) überschichtet. Der Medienwechsel erfolgte vom 1. bis zum 7. Tag täglich und anschließend am 14., 21. und 28. Tag. Die Proben wurden mit je 1ml PBS gespült und jeweils mit neuem Kulturmedium überschichtet. Die Aufbewahrung der Eluate erfolgte bis zur weiteren Verwendung bei -20°C . Um die Zytotoxizität zu bestimmen, wurden jeweils 10.000 MC3T3 Zellen (DMSZ ACC 210, DSM Braunschweig, Deutschland) pro Well in 96-Well-Platten ausgesät und für 48 Stunden bei 37°C und 5% CO_2 -Partialdruck mit jeweils 100 μl der Eluate (8 Wiederholungen pro Probe) inkubiert. Gleichzeitig wurden jeweils Kontrollansätze mit Normalmedium mitgeführt. Anschließend erfolgte der MTT-Test (Roche, Mannheim, Deutschland) entsprechend den Hersteller-

angaben. Die optische Dichte des Formazans konnte bei 570 nm gemessen und die Zellvitalität nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{Zellvitalität (\%)} = 100 \times (\text{OD}_{\text{Mittelwert Testgruppe}} / \text{OD}_{\text{Mittelwert Kontrollgruppe}})$$

4.3.2 Live/dead-Test

MC3T3 Zellen wurden in α -MEM bei 37°C und unter 5% CO₂-Partialdruck kultiviert. Diese Zelllinie differenziert sich unter geeigneten Kulturbedingungen zu Osteoblasten, welche die extrazelluläre Matrix mineralisieren können. Die Platzierung der zylindrischen Probekörper (9 x 4 mm) erfolgte jeweils in eine Vertiefung einer 24-Well-Zellkulturplatte. Anschließend erfolgte die Sterilisation durch eine zweistündige UV-Bestrahlung. In jedes Well wurde 1 ml der MC3T3 Zellsuspension mit einer Dichte von 25000 Zellen/cm² pipettiert und bei 37°C und 5% CO₂-Partialdruck für vier Tage kultiviert. Das Medium wurde nach dem zweiten Tag erneuert.

Am vierten Tag konnte die Vitalfärbung durchgeführt werden. Dazu wurden die Proben mit einer fluoreszierenden Lösung (15µg/ml Fluoresceindiacetat (FDA) und 4µg/ml GelRed® in PBS) versetzt. Die Auswertung erfolgte mit dem Mikroskop Axiotech (Zeiss AG, Jena, Deutschland), wobei die vitalen Zellen durch die grüne Fluoreszenz und die avitalen Zellen durch eine rote Fluoreszenz unterscheidbar waren. Die Aufnahme von Mikrofotographien erfolgte mit der Fluoreszenzmikroskopkamera MP 5000 (Intas, Göttingen, Deutschland) unter Zuhilfenahme der Filtersätze 09 und 14. Die Fotobearbeitung wurde mit Hilfe der Image-Pro Plus Software (Media Cybernetics, Silver Spring, MD) durchgeführt.

4.3.3 Test zum Abbau der Materialien

Der sogenannte Abbaustest diente der Bestimmung der Resorbierbarkeit der Biomaterialien. Die zylinderförmigen Prüfkörper (7 x 7 mm) wurden mit Hilfe von Silikonformen hergestellt (0,5g reines Monomer/ Probekörper). Als Photo-initiatorsystem diente ein 1:1-Gemisch aus CQ und DEABE. Die Belichtung erfolgte für 60 Sekunden. Anschließend wurden die Probekörper mehrfach mit destilliertem Wasser gereinigt und eine Gewichtsmessung durchgeführt. Der Schnellabbaustest wurde bei einer Temperatur von 70°C in destilliertem Wasser über einen Zeitraum

von 20 Wochen durchgeführt. Die Benetzung der Probekörper erfolgte mit je 5 ml der genannten Flüssigkeit. Das Medium wurde nach jeweils vier Wochen gewechselt. Nach Beendigung der Versuchsdurchführung wurden die Proben mit destilliertem Wasser gereinigt, bei 65°C getrocknet und der Gewichtsverlust gravimetrisch gemessen. Der Test wurde jeweils dreifach durchgeführt.

4.4 Antibakterielle Wirksamkeit

Die Prüfung der antibakteriellen Wirksamkeit erfolgte in vitro unter Verwendung der parodontopathogenen Bakterienspezies *P. gingivalis* ATCC 33277 und *E. faecalis* DMSZ 20376. Die Bakterien wurden als Suspensions-Reinkulturen in Schaedlernährmedium (0,1% Konakion (wt/vol)) (Fa. Oxoid, Germany) für 24 Stunden anaerob kultiviert. Die Biomaterialien konnten direkt in die Vertiefungen von 96-Well-Platten appliziert und dort unter Verwendung des Lichthärtegerätes (LCU) Polofil Lux® (Fa. Voco) für 3 x 20 s polymerisiert werden.

Nach der Sterilisation mit UV-Licht (20 min) wurden jeweils 100 µl einer Bakteriensuspension mit der optischen Dichte (OD_{560}) von 0.05 auf die Biomaterialien aufgebracht. Um einen direkten Kontakt der Bakterien mit den Biomaterialoberflächen zu gewährleisten, wurden die Suspensionen abzentrifugiert (300 U/min, 5 min). Anschließend erfolgte die anaerobe Inkubation der Bakterien auf den Biomaterial-Oberflächen für 1 Stunde bei 37°C.

Durch die Bestrahlung der Testansätze mit $1 \times 100 \text{ J/cm}^2$ und $2 \times 100 \text{ J/cm}^2$ (im Intervall, 3minütige Pause) mit Licht der Wellenlänge von 652 nm (Ceralas PDT, Biolitec AG, Jena, Germany) wurde der antibakterielle photodynamische Effekt erzeugt. Die antibakterielle Wirksamkeitskontrolle erfolgte durch Ausplattieren der Bakterientestansätze auf Schaedleragar (10% defibr. Schafblut, 0,1% Konakion (wt/vol)) (Fa. Oxoid, Germany). Nach einer anaeroben Kultivierung für 4 bis 7 Tage konnten die Kolonie bildenden Einheiten (KBE / ml) ermittelt werden.

4.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung des Druckversuches sowie des Drei-Punkt-Biegeversuches erfolgte mit dem Programm SPSS 19.0 für Windows. Es kam der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung.

Dieser nichtparametrische Test dient der Überprüfung auf Gleichheit bei zwei unabhängigen Stichproben. Dabei erfolgte eine Prüfung auf die Richtigkeit der Nullhypothese mit Hilfe des p-Wertes. Wurde dieser überschritten, so war davon auszugehen, dass die Messergebnisse der beiden Stichproben im gleichen Bereich lagen und keinen signifikanten Unterschied aufwiesen. Eine Signifikanz der Messunterschiede ergab sich allerdings bei einem Niveau von $p < 0,05$. In diesem Fall wurde die Nullhypothese abgelehnt.

Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte jeweils zwischen den beiden Basispolymeren sowie zwischen dem Basispolymer und dem entsprechenden Biomaterial in Kombination mit dem Photosensitizer. Zudem erfolgte ein Vergleich der beiden Photosensitizer-haltigen Biomaterialien. Für jedes Material wurden 15 Einzelmessungen durchgeführt.

Auch die antibakterielle Wirksamkeit wurde mit Hilfe des oben genannten Tests statistisch ausgewertet. Pro Material erfolgten jeweils vier Einzelmessungen. Es wurden die reinen Biomaterialien miteinander verglichen und auch die Auswirkung des Photosensitizers bestimmt. Weiterhin konnte auch ein Vergleich zwischen den Photosensitizer-haltigen Materialien beider Basispolymere durchgeführt werden. Des Weiteren erfolgte die Prüfung auf Signifikanz der selben Biomaterialien für die unterschiedlichen Bestrahlungszeiten.

5 Ergebnisse

5.1 Biomechanische Eigenschaften

5.1.1 Eigenstabilität

Die Eigenstabilität der Biomaterialien wurde durch die Bruchkraft charakterisiert. Die ermittelte Bruchkraft lag für BioM1 ohne Photosensitizerzusatz bei 8,47 kN. Durch Zugabe von Temoporfin verringerte sich die Bruchkraft geringfügig auf 6,11 kN (Abbildung 5).

Die zylindrischen Prüfkörper des BioM2 hielten bis zu einem Wert von 10,15 kN der angelegten Kraft stand. Nach Zugabe des Photosensitizers erhöhte sich die Bruchkraft tendenziell auf 14,55 kN. Es konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Eigenstabilität zwischen den Biomaterialien festgestellt werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5 dargestellt.

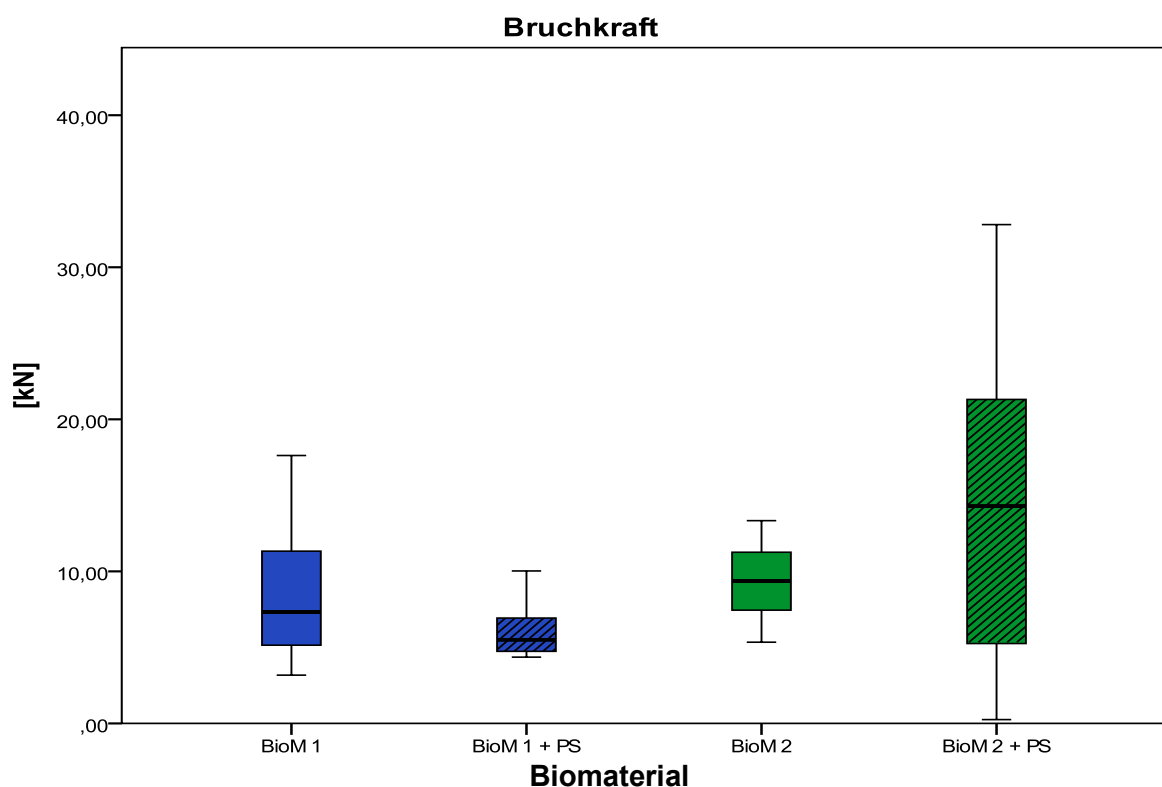


Abbildung 5: Bruchkraft der Biomaterialien

Die Bruchkraft lag für beide Biomaterialien im etwa gleichen Bereich.

Die Zugabe des Photosensitizers reduzierte die Bruchkraft nicht signifikant.

5.1.2 Elastizität

Das Maß für die Elastizität ist der E-Modul. Dieser betrug für BioM1 519,88 MPa. In Kombination mit dem Photosensitizer verringerte er sich signifikant ($p < 0,05$) auf 318,85 MPa.

BioM2 wies primär einen E-Modul von 335,19 MPa auf, mit Temoporfin lag der Wert dann bei 406,23 MPa. Für die Photosensitizer-haltigen Biomaterialien konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6 dargestellt.

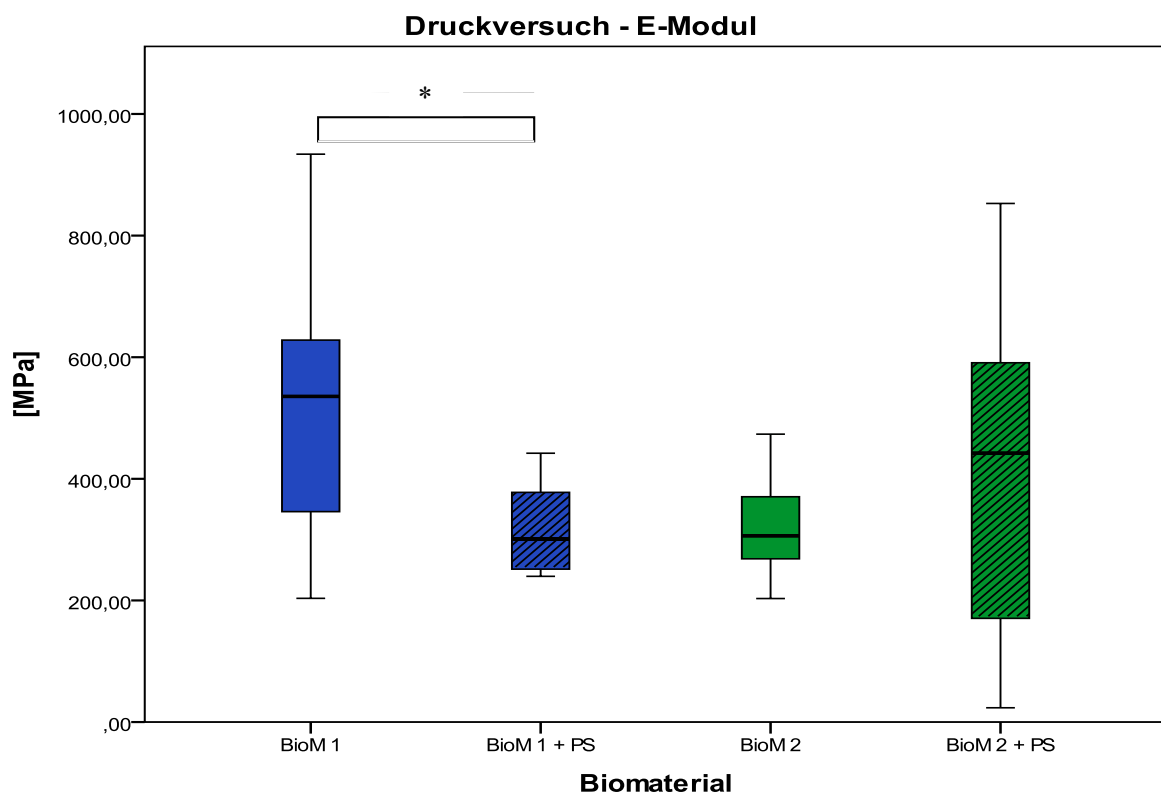


Abbildung 6: E-Modul der Biomaterialien

*: Durch die Zugabe des Photosensitizers wurde für BioM1 eine signifikante Reduktion des E-Moduls im Vergleich zum Material ohne Zusatz ermittelt ($p < 0,05$).

Die Photosensitizer-haltigen Materialien unterschieden sich hinsichtlich des E-Moduls nicht signifikant.

5.1.3 Biegefestigkeit

Die Prüfeinrichtung musste bis zur Fraktur der quaderförmigen Prüfkörper bei BioM1 ohne Temoporfin durchschnittlich 51,28 N aufwenden. Nach Bestimmung des Biegemomentes von 235,64 N/mm² sowie des Widerstandsmomentes (8,77) wurde für BioM1 eine Biegefestigkeit von 29,45 N/mm² ermittelt. Die Zugabe des Photosensitizers resultierte tendenziell in einer Minderung der zur Fraktur der Prüfkörper benötigten Kraft um durchschnittlich 2,41 N auf 48,88 N.

Andererseits erhöhten sich Biegemoment (237,88 N/mm²) sowie Widerstandsmoment (10,74) durch den Photosensitizerzusatz geringfügig, sodass letztlich eine Verringerung der Biegefestigkeit daraus resultierte. Mit einem Wert von 22,81 N/mm² zeigte diese in der Statistik eine tendenzielle, aber keine signifikante Verringerung nach Zugabe des Photosensitizers.

Die Prüfkörper von BioM2 hielten einer Belastung von bis zu 33,56 N stand. Durch das Biegemoment von 135,34 N/mm² und das Widerstandsmoment von 15,68 ergab sich insgesamt eine Biegefestigkeit von durchschnittlich 9,96 N/mm². Nach Zugabe des Photosensitizers nahm die Widerstandsfähigkeit ab und es kam bereits bei einer Kraftaufwendung von 26,72 N zur Fraktur. Auch das Biegemoment war mit 103,34 N/mm² deutlich verringert.

Dagegen erhöhte sich das Widerstandsmoment nach Zugabe von Temoporfin leicht auf 16,86, was letztlich in einer verringerten Biegefestigkeit von 7,58 N/mm² resultierte. Somit wies BioM1 gegenüber BioM2 eine erhöhte Biegefestigkeit ($p < 0.05$) auf. Die Abbildung 7 veranschaulicht die beschriebenen Ergebnisse.

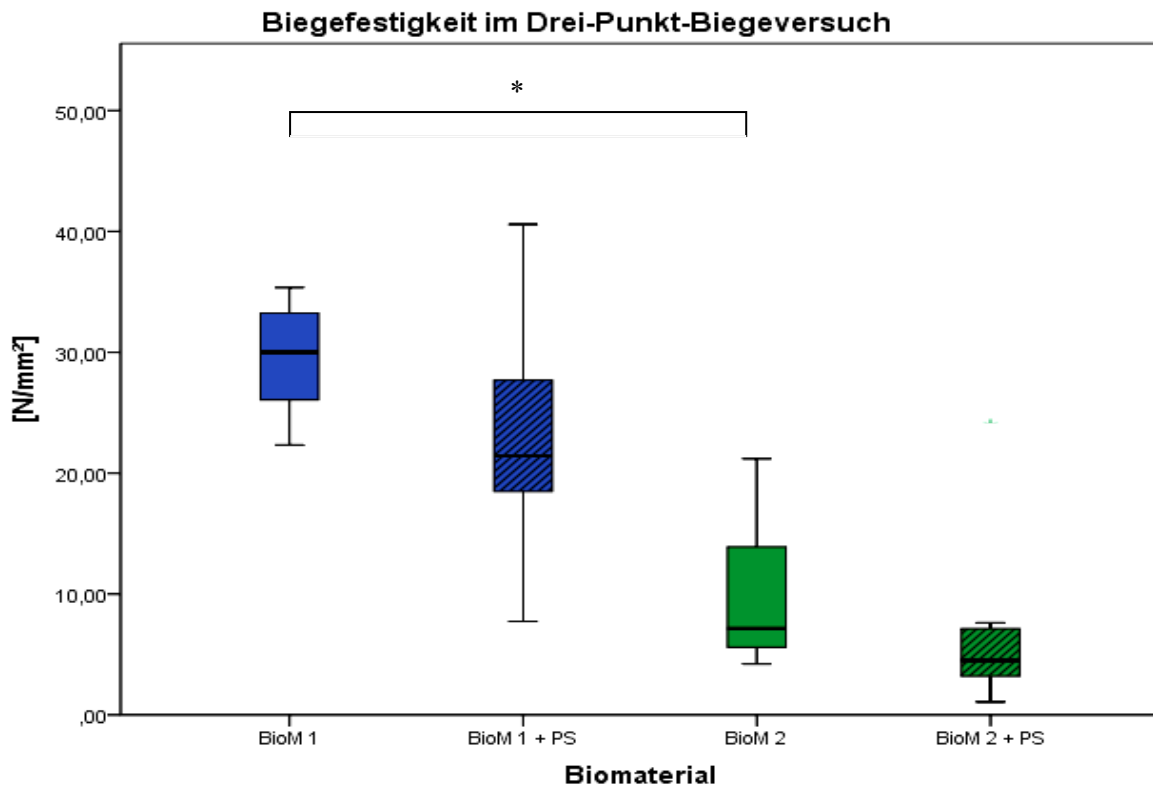


Abbildung 7: Biegefestigkeit der Biomaterialien

*: BioM1 wies gegenüber BioM2 eine höhere Biegefestigkeit ($p < 0,05$) auf.

5.1.4 Glasübergangstemperatur

In der Tabelle 3 sind die Messergebnisse der Glasübergangstemperatur und auch der $\tan\delta$ -Methode dargestellt. Insgesamt betrachtet weist das BioM1 eine höhere Tg auf als das BioM2. Der Zusatz des Photosensitizers beeinflusst diese Materialeigenschaft nicht wesentlich.

Tabelle 3: Glasübergangstemperatur und $\tan\delta$ der Biomaterialien

Biomaterial	Tg [°C]	$\tan \delta$
BioM1	111	0,27
BioM2 + PS	120	0,20
BioM2	31	0,48
BioM2 + PS	35	0,55

5.2 Biokompatibilität

5.2.1 MTT-Test

In Abbildung 8 ist die Zellvitalität der MC3T3 Zellen nach Inkubation mit den Biomaterial-Eluaten und nach Durchführung des MTT-Tests dargestellt. Beide Biomaterialien zeigten nahezu identische Ergebnisse. Die Zugabe des Photosensitizers beeinflusste die Vitalität der Testzellen nicht. Über den gesamten Versuchszeitraum lag die gemessene Vitalität bei nahezu 100%.

Da von einem zytotoxischen Potential erst ab einer Vitalitätsreduktion von unter 80% ausgegangen werden kann, lässt sich konstatieren, dass die getesteten Biomaterialien kein zytotoxisches Potential aufweisen.

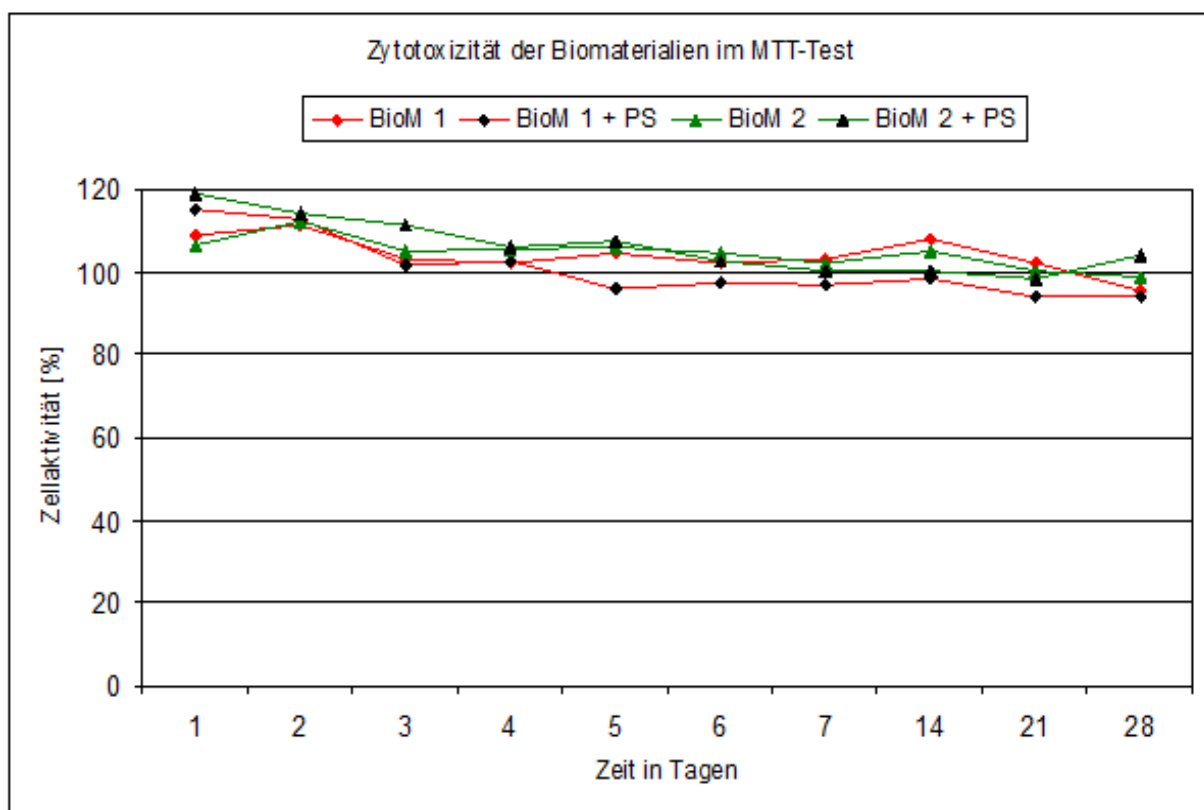


Abbildung 8: MTT-Test

Für die getesteten Biomaterialien wurde kein zytotoxisches Potential ermittelt.

5.2.2 Live/dead-Test

In Auswertung des Direkt-Kontakt-Tests beider Biomaterialien zeigte sich ein dichter vitaler Zellrasen (grüne Fluoreszenz-FDA). Nur sehr vereinzelt konnten avitale Zellen (rote Fluoreszenz-GelRed®) beobachtet werden.

Der Fotoausschnitt der Abbildung 9 ist repräsentativ für den gesamten Testkörper sowie seine Umgebung. Auch nach Zugabe des Photosensitizers wurde die Population vitaler Zellen nicht reduziert (Abbildung 10).

Temoporfin hatte keinen Einfluss auf die Zellvitalität. Ein zytotoxisches Potential des verwendeten Biomaterials gegenüber den MC3T3-Testzellen konnte sowohl mit als auch ohne Photosensitizer nicht beobachtet werden. Diese Ergebnisse sind in den Abbildungen 11 und 12 dargestellt.

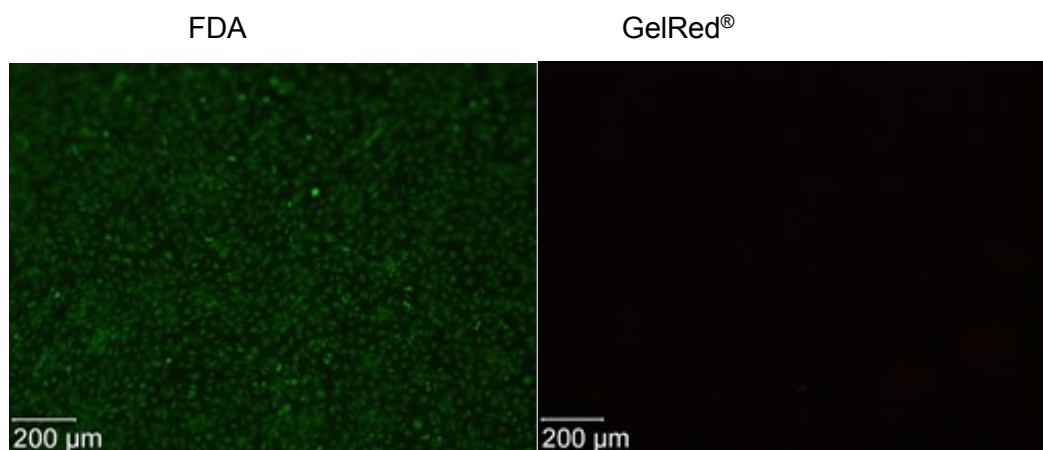


Abbildung 9: Live/dead-Test BioM 1

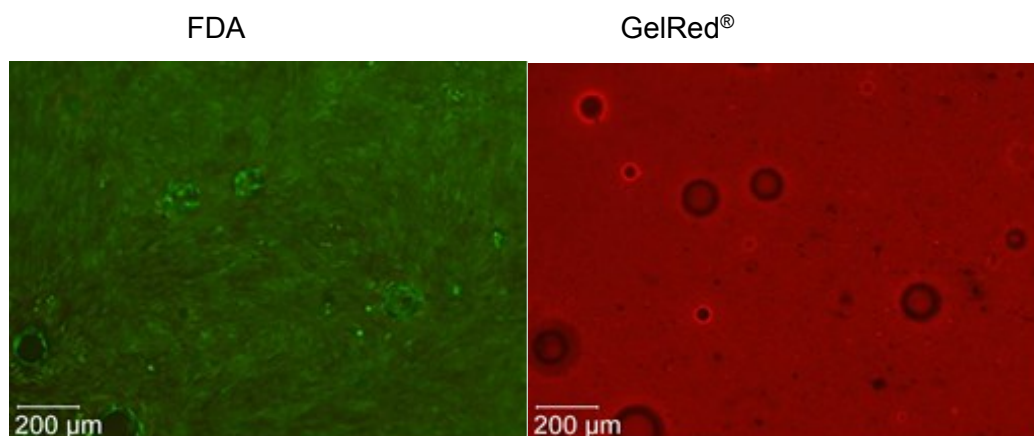


Abbildung 10: Live/dead-Test BioM 1 mit Photosensitizer

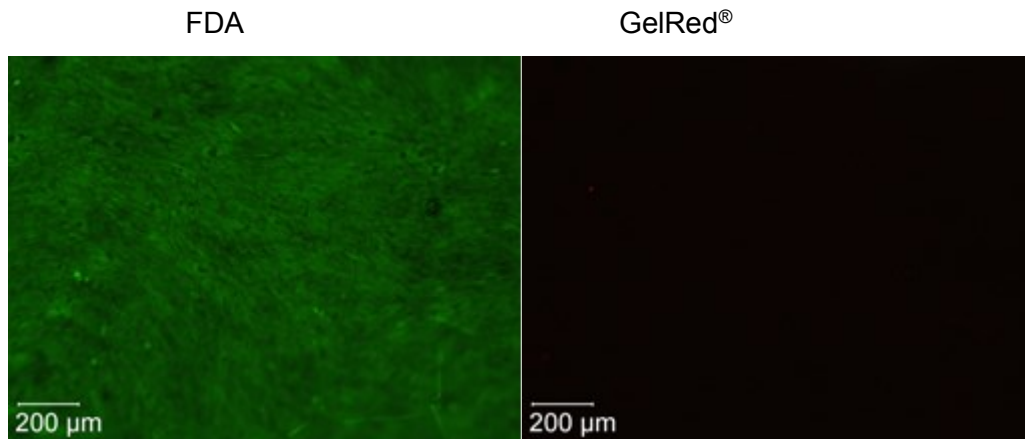


Abbildung 11: Live/dead-Test BioM 2

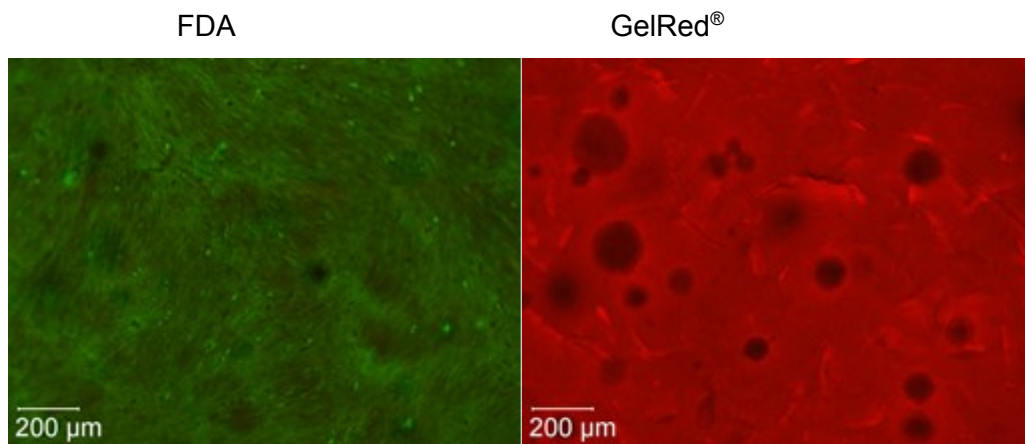


Abbildung 12: Live/dead-Test BioM2 mit Photosensitizer

Abbildung 9 bis 12: Bei allen Materialien sind dichte Zellrasen, bestehend aus vitalen Zellen sichtbar.

5.2.3 Test zum Abbau der Materialien

Das BioM1 zeigte nach 140 Tagen ein nur geringes Abbauverhalten (Abbildung 13). Es lag bei durchschnittlich 1,48%. Durch die Zugabe des Photosensitizers erhöhte sich dieser Wert auf 4,76%.

Demgegenüber wurde das BioM2 deutlich schneller abgebaut. Die Masse der Prüfkörper reduzierte sich innerhalb der ersten 28 Tage um 66,78%. In der Kombination mit dem Temoporfin erhöhte sich der Wert auf 74,09%. Im darauf folgenden Zeitintervall konnte jedoch nahezu kein Abbau mehr festgestellt werden.

Das Abbauverhalten beider Biomaterialien ist in der Abbildung 13 graphisch dargestellt.

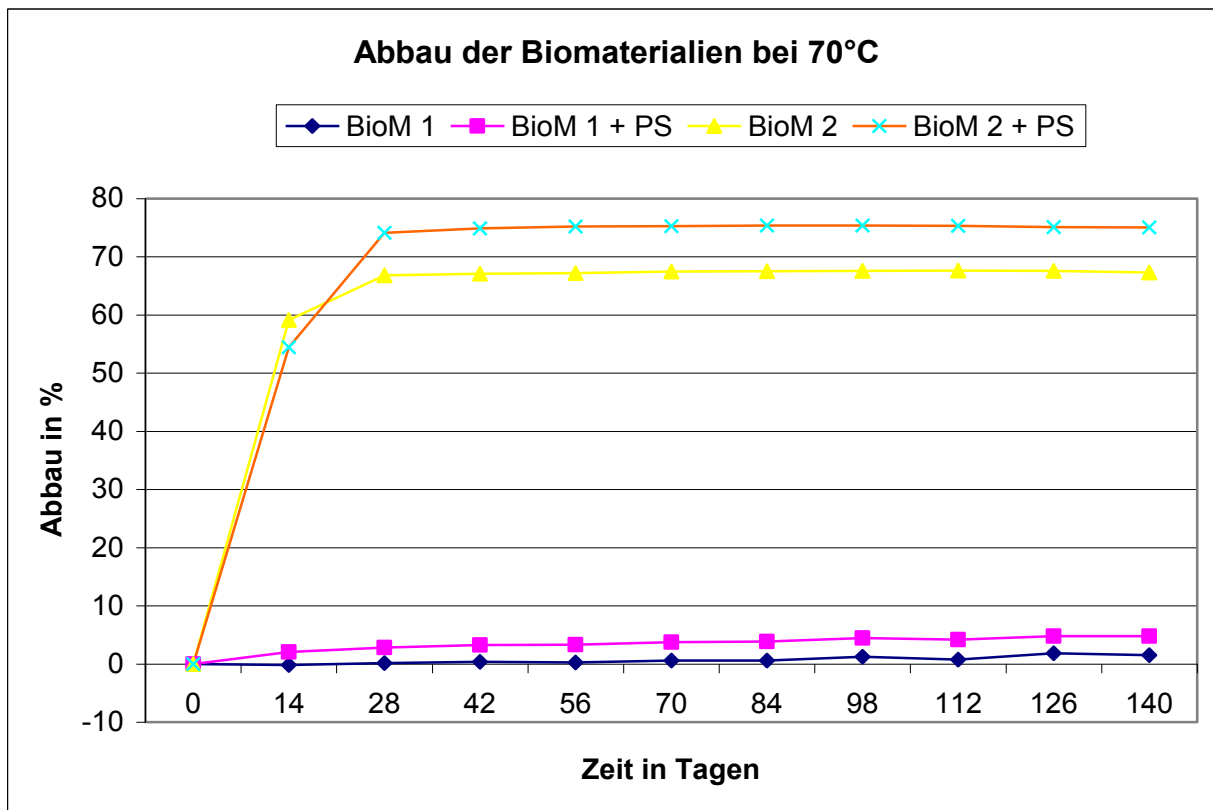


Abbildung 13: Abbauverhalten der Biomaterialien bei 70°C

Das BioM1 wies auch mit dem Photosensitizer nur ein sehr geringes Abbauverhalten auf.

Demgegenüber wurde das BioM2 innerhalb der ersten 28 Tage zu fast 67% abgebaut. Die Zugabe des Temoporfins resultierte in einem erhöhten Abbau.

5.3 Antibakterielle Wirksamkeit

Für das BioM1 konnte auch ohne Temoporfin-Zusatz eine geringe Dunkeltoxizität gegenüber *P. gingivalis* nachgewiesen werden. In Kombination mit dem antibakteriell wirksamen Farbstoff wurde dieser Effekt jedoch signifikant verstärkt. Es konnte ein suffizienter antibakterieller Effekt mit einer Reduktion um 5 log-Schritte nach zweimaliger Bestrahlung im Intervall festgestellt werden (Abbildung 14).

Die Dunkeltoxizität von BioM2 war signifikant geringer ausgeprägt. Nach Zugabe des Photosensitizers wurde für diese Materialkombination eine sehr gute Wirkung auf die Spezies *P. gingivalis* nachgewiesen. Wie die Abbildung 14 zeigt, konnte bereits nach einmaliger Laserbestrahlung der entsprechenden Proben eine vollständige Suppression dieser Spezies beobachtet werden.

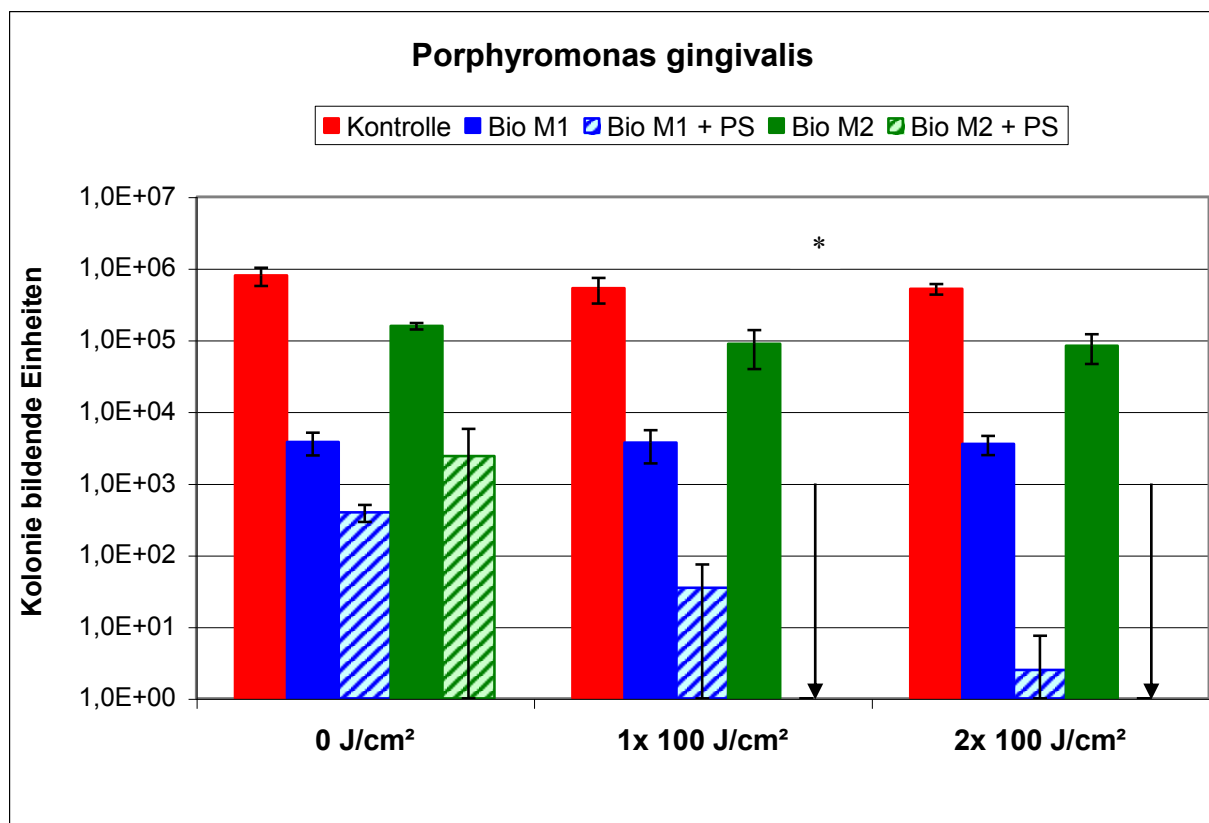


Abbildung 14: Photodynamischer Effekt gegenüber *P. gingivalis*

BioM1 wies in Kombination mit Temoporfin den besten Effekt nach zweimaliger Bestrahlung auf (5 log-Schritte, Wellenlänge 652 nm).

*: Für *BioM2* mit Photosensitizer konnte nach einmaliger Bestrahlung bereits eine vollständige Suppression ermittelt werden.

Nach zweimaliger Bestrahlung von BioM1 mit Temoporfin-Zusatz konnte man bei der Spezies *E. faecalis* eine Reduktion der KBE um 3 log-Schritte erreichen (Abbildung 15). Der antibakterielle Effekt war bei einmaliger Bestrahlung allerdings deutlich geringer. Die BioM2-Photosensitizer-Kombination führte nach zweimaliger Bestrahlung mit jeweils 100 J/cm² im Intervall von drei Minuten zu einer Reduktion von *E. faecalis* um 3 log-Schritte (Abbildung 15). Die Ergebnisse beider Photosensitizer-haltiger Materialien lagen nach zweimaliger Bestrahlung statistisch im gleichen Bereich.

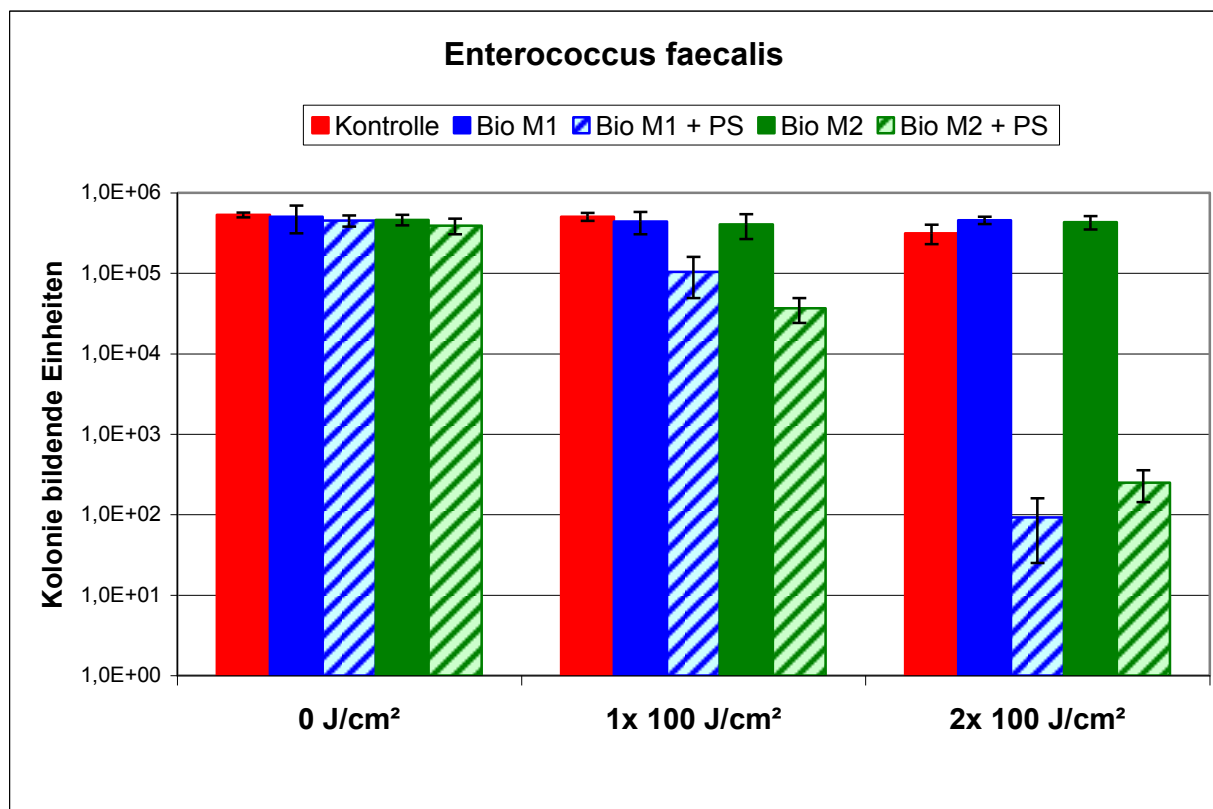


Abbildung 15: Photodynamischer Effekt gegenüber *E. faecalis*

Beide Biomaterialien mit Photosensitizer wiesen nach zweimaliger Bestrahlung mit einer Wellenlänge von 652 nm das beste Ergebnis (3 log-Schritte) auf.

6 Diskussion

Das Voranschreiten einer parodontalen Destruktion führt auch zu Knochenresorptionen. Diese beeinflussen die klinischen Ergebnisse sowohl chirurgischer als auch nicht-chirurgischer Therapieverfahren negativ (Kim et al. 2007). Es kann in der Folge zu Zahnlockerungen und auch Zahnverlusten kommen. Nach einer Extraktion nicht erhaltungswürdiger Zähne können Zahnwanderungen oder Kippungen der Nachbarzähne in die entstandene Lücke auftreten (Wang et al. 2009). Außerdem kann die Elongation des Antagonisten induziert werden. Die durch die Zahnextraktion initiierte Änderung der okklusalen Kontakte kann letztlich zur Manifestation einer multifaktoriell bedingten craniomandibulären Dysfunktion beitragen.

Der Einbruch der Stützzonen, bedingt durch den Verlust mehrerer Zähne, fördert das Auftreten dieses Krankheitsbildes (Dulcic et al. 2003). Diese Gefahr steigt mit zunehmenden Zahnverlust in mehreren Quadranten deutlich an (Wang et al. 2009). Der Verlust von Prämolaren und Molaren speziell im Unterkiefer kann unter anderem zu einer Diskusverlagerung im entsprechenden Kiefergelenk führen (Tallents et al. 2002).

Weiterhin hat der Verlust eines Zahnes eine erhöhte Knochenresorption in vertikaler und horizontaler Dimension im Bereich der betroffenen Alveole zur Folge. Insgesamt werden zwischen 40% und 60% des Knochens resorbiert (Grisdale 1999). Dieser Abbauprozess ist in den ersten sechs Monaten nach dem Zahnverlust besonders stark ausgeprägt (Irinakis 2006). So kann eine spätere Therapie durch zum Beispiel Implantatinserterion (Irinakis 2006) hinsichtlich der funktionellen und ästhetischen Aspekte erheblich kompliziert werden.

Deshalb sollte die zahnärztliche Therapie parodontaler Destruktionen so ausgerichtet sein, den Zahnverlust möglichst zu vermeiden. Die Ziele der regenerativen Parodontitistherapie umfassen daher die Beseitigung der bakteriell bedingten Entzündung und die anschließende Regeneration und Reparation der verloren gegangenen Gewebe (Sukumar und Drizhal 2008).

Dabei wirkt sich speziell der Einsatz von Knochentransplantaten und Knochenersatzmaterialien positiv auf die parodontale Regeneration aus (Hanes 2007, Sukumar und Drizhal 2008).

Insgesamt stellt die Rekonstruktion der parodontalen Gewebe beziehungsweise des parodontalen Knochens ein zentrales Anliegen aktueller Therapiekonzepte dar.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb die Entwicklung und die Testung neuartiger synthetischer Knochenersatzmaterialien, speziell für die Therapie der parodontalen Knochenläsionen. Diese stellen durch den zu Grunde liegenden Pathomechanismus der bakteriellen Infektion und der daraus resultierenden Schädigung des Zahnhalteapparates besondere biomechanische und antibakterielle Anforderungen an mögliche, neue Knochenersatzwerkstoffe.

Die bisher verfügbaren biologischen Materialien sind speziell für die Anwendung bei parodontalen Defekten bisher nur mit Einschränkungen als geeignet anzusehen.

Das häufig als Goldstandard angesehene autologe Transplantat (Giannoudis et al. 2005) muss zunächst aus einer Donorregion entnommen werden. Diese sind intraoral auf einige wenige Bereiche, wie die retromolare Region, den Processus Coronoideus oder interforaminal gelegene Knochenareale begrenzt (Aalam und Nowzari 2007, Brugnami et al. 2009). Somit ist auch die verfügbare Menge limitiert (Greenberg et al. 2012). Das am häufigsten entnommene Transplantat ist die anteriore oder posteriore Beckenkammpongiosa (Giannoudis et al. 2005, Shergafi und Reikeras 2009). Die extraorale Entnahme der entsprechenden Transplantate ist in einer zahnärztlichen Praxis jedoch meist nicht möglich und stellt daher keine Alternative für die parodontale Therapie dar (Ehmke und Flemming 1999). In Abhängigkeit von der Lokalisation der Entnahmestelle besteht unter anderem die Gefahr der Wundinfektion, Nachblutung sowie einer Nervschädigung (Nandi et al. 2010).

Aus diesen genannten Gründen gewinnen die synthetischen Knochenersatzmaterialien in der parodontalen Therapie zunehmend an Bedeutung. (Shankar et al. 2011, Yadav et al. 2011). Die Materialklasse der Polymere wird dabei als besonders zukunftssträftig angesehen, weil diese besonders hinsichtlich ihrer Praktikabilität und biomechanischen Eigenschaften zahlreiche Vorteile aufweisen (Youan et al. 2010).

Die Anforderungen an diese Biomaterialien wurden durch die Autoren Sukumar und Drizhal (2008) zusammengefasst.

Die Substanzen sollen als Defektfüller eine dem autologen Knochen entsprechende Festigkeit und Elastizität besitzen. Sie sollen biokompatibel und resorbierbar sein. Dabei wird gefordert, dass die Resorption in dem selben Maße erfolgt, wie die Apposition neuen Knochens. Darüber hinaus wird zunehmend eine antibakterielle Wirksamkeit im Zuge regenerativer Parodontitistherapien diskutiert.

Um diese genannten Forderungen zu erfüllen, entwickeln Forschungsgruppen immer häufiger Komposite zum Knochenersatz (Koleganova et al. 2006, Aboudzadeh et al. 2010, Yamadi et al. 2009, Swetha et al. 2010, Yuan et al. 2010, Niu et al. 2011, Ghanaati et al. 2012). Diese bestehen aus verschiedenen Materialien derselben oder auch verschiedener Klassen.

Dennoch gibt es bisher kein Biomaterial, was alle genannten Anforderungen hinreichend erfüllt.

In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb verschiedene synthetische Materialien bezüglich der mechanischen Eigenschaften, ihrer Zytotoxizität und der antimikrobiellen phototoxischen Wirkung charakterisiert. Bei den untersuchten Materialien handelte es sich um Urethanmethacrylate, Polyesterurethanmethacrylate, Urethantrimethacrylate, methacrylierte Oligolactide und Urethandimethacrylate. Dies sind biodegradierbare Polymere, die gegenüber herkömmlichen regenerativen Substanzen zahlreiche Vorteile aufweisen.

So kann beispielsweise gegenüber Materialien biologischer Herkunft die Übertragung infektiöser Krankheiten vermieden werden und zusätzliche Entnahmestellen von autologem Knochenmaterial am Patienten vermieden werden. Darüber hinaus besteht eine unbegrenzte Verfügbarkeit dieser Knochenersatzwerkstoffe.

Im Speziellen bestehen die ausgewählten Materialien aus den folgenden Komponenten.

Das BioM1 besitzt als Basispolymer das Dimethacrylat UDMA. Dessen biomechanische Eigenschaften werden im Wesentlichen durch die Seitengruppen bestimmt (Tanaka et al. 2001). Die Rotationsfähigkeit der Esterbindungen resultiert in einer ausreichenden Eigenelastizität (Van Landuyt et al. 2007) des Materials, obgleich eine Ausbildung dichter Polymernetze eine hohe mechanische Festigkeit garantiert. Im Gegensatz zu Monomethacrylaten weist diese Substanz ein

hydrophobes Verhalten auf. In der Materialgruppe der Dimethacrylate besitzt es die geringste Wasserresorptionsrate (Sideridou et al. 2007). Dadurch kann die Änderung biomechanischer Eigenschaften, bedingt durch auftretende Wasserresorptionen, vermieden werden (Regnault et al. 2008).

Das BioM2 basiert auf Polyesterurethanmethacrylat, welches durch eine chemische Reaktion von D,L-Laktid und Glycerin synthetisiert wird. Laktide werden bereits erfolgreich zur ossären Regeneration eingesetzt. Durch ihre Volumenstabilität erfüllen sie eine Platzhalterfunktion und verhindern das Einwachsen anderer Gewebe in den Knochendefekt (Serino et al. 2007). Des Weiteren konnte in den Grenzgebieten zum ortsständigen Knochen auch eine erhöhte Knochenneubildung festgestellt werden. Die Biomaterialien können vollständig resorbiert werden.

Beide Biomaterialien liegen unpolymerisiert in einem flüssigen Aggregatzustand vor. Dies ermöglicht eine Applikation mit Hilfe einer feinen Kanüle speziell in anatomisch komplizierte und schwer zugängliche Defektbereiche, weshalb injizierbare Knochenersatzmaterialien in weiten Teilen der Medizin zunehmend an Bedeutung gewinnen (Boix et al. 2006, Fatimi et al. 2010, Kim et al. 2011). Die anschließende Lichthärtung kann mit einer handelsüblichen Polymerisationslampe erfolgen, so dass dieses Verfahren in der alltäglichen zahnärztlichen Therapie angewendet werden kann. Dabei sollte, wie auch bei umfangreichen Kompositrestaurationen, eine schichtweise Polymerisation erfolgen, um den Anteil an Monomeren zu reduzieren.

Zur Realisierung einer antimikrobiellen Wirkung im Zuge der regenerativen Parodontaltherapie wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit den Biomaterialien der Photosensitizer Temoporfin (mTHPC) zugesetzt. Dieser besitzt als Vertreter der zweiten Generation (Senge et al. 2011) gegenüber bisher verwendeten Substanzen, wie Methylenblau, eine gesteigerte Fähigkeit zur Singulett-Sauerstoff-Produktion (Rajesh et al. 2011). Dadurch kann ein wirksamerer antibakterieller Effekt erreicht werden. Singulett-Sauerstoff entsteht nur während der Laserbestrahlung in einem Radius von 0,02 μm und ist somit für eine lokale Anwendung geeignet. Eine systemische Nebenwirkung ist nicht zu erwarten. Die Bestrahlung mit Laserlicht geeigneter Wellenlänge kann dabei sowohl subgingival wie auch transgingival erfolgen (Mettraux und Hüsler 2011). Da die verwendeten Laser eine

durchschnittliche Wirkungstiefe von 0,5-1,5 cm haben, konnten Mettraux und Hüsler in der 2011 durchgeführten Studie für beide Anwendungen nahezu identische Resultate erzielen.

Als Trägersubstanz für mTHPC wurde in der vorliegenden Studie β -TCP verwendet. Dieses synthetische Knochenersatzmaterial ist ein Vertreter der Keramiken. Eine herausragende Eigenschaft von β -TCP ist die Ausbildung zahlreicher Poren unterschiedlicher Größe, die eine schnelle Knochenregeneration durch die Migration von Osteoblasten, Wachstumsfaktoren und auch durch Gefäßeinsprossungen ermöglichen (Giannoudis et al. 2005, Dimitriou et al. 2011, Liu et al. 2011). Aufgrund dieser Eigenschaft ist die Substanz anderen Keramiken, wie synthetischen Hydroxylapatiten, überlegen (Ghanaati et al. 2012). Die Eignung von β -TCP als Trägersubstanz wird umfangreich für die gesteuerte ossäre Regeneration genutzt. Der Zusatz dieser Keramik zu anderen Knochenersatzmaterialien verbessert die mechanischen Eigenschaften (Yanoso-Scholl et al. 2010) sowie die Zellproliferation im Kontaktbereich zum ortsständigen Knochen (Bonzani et al. 2007).

Speziell die Kombination aus Polymeren und Trikalziumphosphat wird in der Literatur zunehmend beschrieben (Bonzani et al. 2007, Zhang et al. 2009). So ist zum Beispiel die Kombination aus Polyurethanen und β -Trikalziumphosphat hinsichtlich der Elastizität und der mechanischen Eigenschaften den injizierbaren Knochenzementen überlegen (Bonzani et al. 2007).

Darüber hinaus konnten Hu et al. (2012) durch die Beladung der β -TCP-Partikel mit osteogenetisch wirkenden Proteinen eine verbesserte Knochenregeneration nachweisen.

Auch die in der vorliegenden Studie getesteten Materialien stellen Komposite, bestehend aus Polymeren und dem β -TCP, dar.

Die beiden Basispolymere der Biomaterialien BioM1 und BioM2 bestimmen maßgeblich die biomechanischen Eigenschaften sowie die Resorbierbarkeit der jeweiligen Kompositmaterialien. Durch den flüssigen Aggregatzustand in der unpolymerisierten Form wird auch die Platzierung in anatomisch komplizierte Bereiche ermöglicht.

Das β -TCP erfüllt zwei wesentliche Aufgaben. Durch die Bildung zahlreicher Poren soll eine schnellere Migration körpereigener Zellen möglich und dadurch die

Wundheilung positiv beeinflusst werden. Darüber hinaus dient das Trikalziumphosphat als Trägersubstanz für den Photosensitizer Temoporfin.

Dieser dritte Bestandteil der Komposite ist die Voraussetzung für die Suppression parodontopathogener Bakterienspezies im Rahmen der photodynamischen Therapie.

Die mechanischen Eigenschaften sind von herausragender Bedeutung für eine erfolgreiche Knochenregeneration. Dimitriou et al. (2011) konnten beweisen, dass die ausreichende Wundstabilisierung eine unabdingbare Grundlage der Angiogenese und damit auch der Vaskularisierung ist. Die Erfüllung dieser Notwendigkeit ist auch eine Voraussetzung für die Regeneration parodontaler Gewebe (Yadav et al. 2011). Eine erhöhte Beweglichkeit im Bereich der Wunde, zum Beispiel bedingt durch parodontal geschädigte Zähne, hingegen führt zu einer Minderung der Vaskularisierung. In der Konsequenz kann es zur Bildung minderwertiger fibröser Bindegewebe im Bereich des Knochendefektes kommen (Dimitriou et al. 2011). Deshalb werden bei aktuellen Therapiekonzepten häufig stabilisierende Wundverbände oder Schienungen vorgenommen. Diese besitzen jedoch meist nur einen eingeschränkten Tragekomfort und können zum Teil auch die Mundhygiene erschweren.

Die infolge der Photopolymerisation bei den in der vorliegenden Untersuchung getesteten Biomaterialien entstehenden dreidimensionalen Gefüge besitzen besondere biomechanische Eigenschaften, die mit Hilfe des Druckversuches und Drei-Punkt-Biegeversuches ermittelt werden konnten.

Um einen möglichen Einfluss des Photosensitizers auf diese Eigenschaften zu eruieren, wurden die Prüfserien sowohl mit Photosensitizer-haltigen Prüfkörpern als auch mit Polymerprüfkörpern ohne Temoporfin-Zusatz durchgeführt. Mit Hilfe des Druckversuches wurden der Elastizitätsmodul sowie die Bruchkraft bestimmt. Wie die Ergebnisse zeigen, konnte für BioM1 und für BioM2 jeweils mit PS 6,11 kN beziehungsweise 14,55 kN ermittelt werden. Ohne Temoporfinzusatz wurde bei BioM1 eine Bruchkraft von 8,74 kN und bei BioM2 10,15 kN festgestellt. Der Zusatz des Photosensitizers hatte demnach keine signifikante Reduktion der Bruchkraft zur Folge. Wie die Studie von Koc et al. (2010) zeigt, treten im Parodontium Kaukräfte von bis zu 1,7 kN auf. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass beide Biomaterialien den auftretenden Kaukräften standhalten können.

Dennoch besitzt der Zahn durch den besonderen anatomischen Aufbau des Parodonts eine physiologische Eigenbeweglichkeit. Diese wird durch die spiralförmige Anordnung von hauptsächlich kollagenen Fasern erreicht und ermöglicht eine Umwandlung der auftretenden Druckkräfte in Zugkräfte. Die einwirkenden Kaukräfte haben zudem eine Formveränderung des gesamten Unterkiefer-Zahnbogens zur Folge. Diese besondere Eigenschaft des Parodonts kann biomechanisch durch die Bestimmung des E-Moduls charakterisiert werden.

Dabei handelt es sich um eine mechanische Kenngröße, welche die elastischen Eigenschaften beschreibt. Wie eine Studie von Ho et al (2010) zeigt, beträgt der E-Modul für den desmodontalen Faserapparat in Abhängigkeit von der anatomischen Region zwischen 0,1 und 1,0 GPa.

In der vorliegenden Studie wurden für die Photosensitizer-freien Biomaterialproben BioM1 und BioM2 ein E-Modul von 0,52 GPa beziehungsweise 0,34 GPa ermittelt. Durch die Zugabe von Temoporfin konnte für BioM1 eine signifikante Abnahme des Werts auf 0,32 GPa und für BioM2 eine Zunahme auf 0,41 GPa ermittelt werden.

Wie die Untersuchungen von Ho et al. (2010) bestätigen, liegen die in der vorliegenden Arbeit bestimmten Werte für die E-Module im physiologischen Bereich der parodontalen Belastung. Zudem übersteigen die ermittelten E-Module nicht diejenigen des Knochens, die bis zu 9,6 GPa betragen (Ho et al. 2010). Eine zu hohe Steifigkeit des Materials könnte aber auch infolge eines auftretenden „stress shielding“, wie es häufig bei dentalen Implantaten beobachtet wird, zu einer vermehrten Knochenresorption im Kontaktbereich führen (Koleganova et al. 2006).

In diesem Zusammenhang stellt auch die Glasübergangstemperatur ein wichtiges biomechanisches Charakteristikum der Polymere dar. Sie ist für jedes Polymer spezifisch und bestimmt in einem erheblichen Maße das mögliche Anwendungsgebiet des Materials.

Mit zunehmendem Temperaturanstieg gehen die Materialien von einem spröden und frakturanfälligen Glasbereich allmählich in einen gummielastischen Bereich über. Die Glasübergangstemperatur definiert dabei das Übergangsintervall zwischen diesen beiden Bereichen. Substanzen, die unterhalb dieser Kenngröße angewendet werden, sind hart und spröde. Liegt der Anwendungsbereich jedoch oberhalb der Glasübergangstemperatur, so besitzt das Material elastische Eigenschaften.

Die hier getesteten Biomaterialien weisen insgesamt gute elastische Materialeigenschaften auf. Die Glasübergangstemperatur für BioM1 ohne Photosensitizer beträgt 111°C, nach Photosensitizer-Zugabe erhöht sie sich auf 120°C. Dem gegenüber besitzt BioM2 eine Glasübergangstemperatur von 31°C, welche sich nach dem Zusatz des Photosensitizers auf 35°C beläuft. Das BioM2 hat durch eine niedrigere Glasübergangstemperatur elastischere Eigenschaften als das BioM1. Die Zugabe des Photosensitizers beeinflusst diese Eigenschaft nicht wesentlich.

Eine weitere wichtige biomechanische Kenngröße, die die Frakturresistenz gegenüber auftretenden Kräften beschreibt, ist die Biegefestigkeit, welche in der vorliegenden Studie mit Hilfe des Drei-Punkt-Biegeversuchs ermittelt wurde. Sie beträgt für das BioM1 ohne Photosensitizer 29,45 N/mm² und verringert sich nach dessen Zugabe auf 22,81 N/mm². Es ergibt sich eine tendenzielle Reduktion nach der statistischen Auswertung. Auch Mumcu et al. (2011) beschrieben für das Basismaterial UDMA hervorragende Biegeeigenschaften und diskutierten es als Alternative zu bisherigen Substanzen. Die Biegefestigkeit des BioM2 beträgt im Mittel 9,96 N/mm² und verringert sich durch die Temoporfin-Zugabe auf 7,58 N/mm². Im Vergleich dazu besitzt das BioM1 gegenüber dem BioM2 eine höhere Biegefestigkeit.

Betrachtet man die gesamten Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen, so entsprechen die biomechanischen Eigenschaften beider Materialien denen natürlicher Gewebe.

Durch die Volumenstabilität erfüllen die Biomaterialien zudem eine Platzhalterfunktion. Die Regeneration des ossären und desmodontalen Gewebes wird so begünstigt, denn dem Einwachsen schnell proliferierenden Granulationsgewebes in den Defekt und einer damit verbundenen Behinderung des Reattachments wird suffizient entgegengewirkt.

In einer Studie wiesen Sela et al. (1999) eine verstärkte Adhärenzfähigkeit von *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola* und auch von *P. gingivalis* gegenüber Kollagenmembranen nach. Der Einsatz dieser Membranen als Platzhalter könnte durch die beiden hier getesteten Biomaterialien überflüssig werden. Dadurch würde die Gefahr der Infektion des Wundbereiches oder der Reinfektion durch die oben genannten Bakterienspezies reduziert. Zudem könnte die Papillenregeneration durch

eine Modellation des Biomaterials im Interdentalraum begünstigt werden. Eine Wiederherstellung dieses ästhetisch wichtigen Bereiches ist ein Anliegen der meisten Patienten. Mit den bisherigen Methoden ist diese Forderung jedoch nur schwer zu erfüllen.

Ein nicht zu unterschätzendes Problem verwendeter Biomaterialien stellt die Zytotoxizität dar. Jedes mit dem Körper in Kontakt stehende Biomaterial geht eine Wechselwirkung mit dem Organismus ein. Eine mangelnde Biokompatibilität der angewendeten Knochenersatzmaterialien kann die Regeneration des umgebenden Knochens inhibieren (Yamada et al. 2010). Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit auch die Zellvitalität mit Hilfe des MTT-Tests ermittelt. Über einen Zeitraum von 28 Tagen lag die Aktivität der MC3T3-Zellen für beide Biomaterialien bei nahezu 100 %. Ein toxisches Potential hingegen wird erst ab einem Aktivitätsverlust von 20 % und mehr angenommen (Geng et al. 2009). Die Werte für die Zytotoxizität lagen für beide Biomaterialien in einem identischen Bereich. Ein geringer Aktivitätsverlust der Zellen, der zwischen dem ersten und dritten Tag beobachtet wurde, könnte die Folge unpolymersierter Restmonomere sein (Jadhav et al. 2011). Um diese möglichst gering zu halten empfiehlt sich das schichtweise Applizieren und Polymerisieren der Biomaterialien vor allem bei bestehenden tiefen parodontalen Defekten.

Eine mögliche Zytotoxizität von UDMA, wie in der Studie von Wisniewska-Jarosinska et al. (2011) beschrieben wurde, konnte für BioM1, welches diese Komponente enthält, nicht nachgewiesen werden. Auch Ren et al. (2008) konnten für ein Komposit, basierend auf Poly-D,L-Laktid nur eine geringe inflammatorische Reaktion nachweisen und somit ist ein zytotoxisches Potential unwahrscheinlich.

Im Vergleich mit dem Hydroxylapatit führen die hier getesteten Materialien zu besseren Ergebnissen. Dieses Biomaterial ist ebenfalls nicht zytotoxisch, nach durchgeführten MTT-Test waren allerdings nur noch 75 % der Zellen vital (Inayat-Hussain et al. 2004).

Im Live/dead-Test konnte ein dichter vitaler Zellrasen für beide Biomaterialien in den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen dokumentiert werden. Der Zusatz des Photosensitizers hatte dabei keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

Eine weitere geforderte Eigenschaft an die synthetischen Knochenersatzmaterialien ist die Resorbierbarkeit (Matassi et al. 2011). Der Test zum Abbau der untersuchten Probekörper dokumentierte eine niedrige Resorptionsquote für das

BioM1 sowohl mit als auch ohne den Zusatz des Photosensitizers. Aus diesem Grund kann man für dieses Biomaterial eine lange anhaltende Platzhalterfunktion diskutieren, die essenziell für den stark gelockerten Zahn ist (Kasaj et al. 2008, Mota et al. 2012).

Demgegenüber weist das BioM2 innerhalb der ersten 28 Tage einen vermehrten Abbau auf. Die Ursache hierfür liegt in der chemischen Struktur dieses Materials. Während der Photopolymerisation kommt es zu einer unregelmäßigen Vernetzung der Moleküle, woraus stärker beziehungsweise weniger stark vernetzte Bereiche resultieren. Die letztgenannten Abschnitte werden innerhalb kürzester Zeit abgebaut, währenddessen die stark vernetzten Bereiche nur sehr langsam resorbiert werden. Aus diesem Grund resultiert nach 28 Tagen insgesamt nur noch ein sehr langsamer Abbau.

Mit welcher Geschwindigkeit aber die Resorption der Biomaterialien im Organismus statt finden wird, kann hier nicht ausreichend geklärt werden, da wichtige Parameter, wie zum Beispiel die Wirkung bestimmter Enzyme oder die niedrigere Körpertemperatur von 37°C in diesem Versuch nicht berücksichtigt werden konnten.

Die zentrale Rolle der Parodontitistherapie stellt die Suppression der parodontopathogenen Spezies dar, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durch die Anwendung der antibakteriellen photodynamischen Therapie erfolgen sollte.

Allerdings stellt diese Therapievariante bisher keine eigenständige Therapieform dar. Sie setzt als adjuvanten Therapieschritt eine vorherige mechanische Reinigung der Wurzeloberflächen in Form von Scaling und Wurzelglättung voraus (Mettraux und Hüsler 2011, Rajesh et al. 2011, Sigusch et al. 2010).

Von besonderer Relevanz ist die Elimination der Bakterienspezies *P. gingivalis*, da diese Spezies im Wesentlichen für das Fortschreiten der parodontalen Knochendestruktion verantwortlich ist.

Die Spezies *E. faecalis* kann über das Wurzelkanalsystem das Parodont erreichen und periradikuläre Abszesse mit einer folgenden parodontalen und ossären Destruktion sowie auch systemische Erkrankungen hervorrufen. Daher wurde die antibakterielle Wirksamkeit gegenüber den beiden genannten Bakterienspezies evaluiert.

Nach der Überschichtung der auspolymerisierten Biomaterialien mit der jeweiligen Bakteriensuspension wurde der antibakterielle Effekt durch die anschließende Bestrahlung mit einem Laser und Licht der Wellenlänge 652 nm erzielt. Weiterhin wurde die Effektivität verschiedener Bestrahlungsintervalle ermittelt.

Besonders geeignet ist das BioM2 in Kombination mit Temoporphin. Bereits nach einmaliger Bestrahlung mit $1 \times 100 \text{ J/cm}^2$ konnte eine vollständige Elimination der Bakterienspezies *P. gingivalis* dokumentiert werden. Auch bei dem BioM1 mit dem Photosensitizer war eine deutliche Reduktion festzustellen, vor allem nach zweimaliger Bestrahlung im Intervall konnten die KBE von *P. gingivalis* um 5 log-Schritte gesenkt werden.

Gegenüber *E. faecalis* wurde nach zweimaliger Laserbestrahlung das beste Resultat erzielt, welches für beide Materialien im gleichen statistischen Bereich lag. Auch Kranz et al. (2011) konnten durch die Anwendung von mTHPC eine sehr gute Suppression dieser Bakterienspezies nachweisen.

Die Gefahr einer eventuellen Bakteriämie mit diesen Pathogenen kann somit wesentlich reduziert werden. Auch immunsupprimierte Patienten könnten mittels photodynamischer Therapie behandelt werden, denn bei diesen kann es zum gehäuften Auftreten resistenter Stämme auf Grund der langen Antibiosen kommen (Goncalves et al. 2009). Gleiches gilt für immundefiziente Patienten. In diesem Kontext wiesen Engelhardt et al. (2010) eine gute antibakterielle Effektivität des Photosensitizers Fospeg[®], bei dem es sich um ein mTHPC-Derivat handelt, gegenüber *Staphylococcus aureus* nach. Diese häufig als multiresistent eingestufte Spezies spielt die zentrale Rolle bei Wund- und Hautinfektionen und kann im weiteren Verlauf zu schweren systemischen Komplikationen, wie zum Beispiel einer Sepsis, führen. Die Effektivität der antibakteriellen photodynamischen Therapie gegenüber *S. aureus* stellt deren klinische Relevanz unter Beweis. Zudem konnten Engelhardt et al. (2010) bei einer Wellenlänge von 654 nm auch eine sehr gute Wirkung auf den Biofilm nachweisen.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der antibakteriellen photodynamischen Therapie stellt die adjuvante Behandlung der Periimplantitis dar. Diese tritt laut Takanashi et al. (2004) in zwei bis zehn Prozent aller Fälle nach einer Implantation auf. Dieser Spätkomplikation (Ata-Ali et al. 2011) liegen zahlreiche Patho-

mechanismen zu Grunde, die letztlich zu einer Implantatlockerung und auch einem Verlust führen können (Sanchez-Garces und Escoda 2004).

Als Ursache der Entzündung wird auch hier eine Infektion mit parodontopathogenen Bakterienspezies gesehen (Meffert 1996, Ata-Ali et al. 2011).

Eine entscheidende Rolle spielt die Spezies *P. gingivalis*, welche massive Knochendestruktionen auslösen kann (Sanchez-Garces und Escoda 2004). Dieses Bakterium kann von einem bestehenden parodontalen Defekt ausgehend, über den Speichel die Implantatoberfläche sowie das umgebende Gewebe erreichen und so eine Destruktion auslösen (Takanashi et al. 2004).

Auch in diesem Kontext könnten die im Rahmen der vorliegenden Studie entwickelten Biomaterialien zukünftig eine wichtige Rolle spielen.

Parodontitispatienten weisen auf Grund der bestehenden bakteriellen Besiedelung insgesamt ein erhöhtes Risiko einer Periimplantitis auf. Eine Implantatinserterion sollte daher frühestens ein halbes Jahr nach erfolgreicher Parodontitistherapie durchgeführt werden. Bei einer bestehenden Erkrankung mit Knochenverlust und Lockerung des Implantates könnte durch die biomechanischen Eigenschaften der vorliegenden Materialien möglicherweise auch eine Festigung des Implantates erreicht werden.

7 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen die erfolgreiche Entwicklung zweier für den parodontalen Knochenersatz geeigneten Biomaterialien mit einer vielversprechenden Charakterisierung hinsichtlich biomechanischer, zytotoxischer und antimikrobieller Eigenschaften.

Im unpolymerisierten, flüssigen Zustand könnten beide synthetischen Biomaterialien mühelos in einen anatomisch häufig komplizierten parodontalen Knochendefekt appliziert werden. Durch die Photopolymerisation mit einem herkömmlichen Lichthärtegerät entstehen dreidimensionale Gefüge mit sehr guten biomechanischen Eigenschaften. Die ermittelten Bruchkräfte liegen für beide Materialien im gleichen Bereich und werden selbst stärksten Kaukräften widerstehen. Hierdurch ist eine ausreichende Schienung der, bedingt durch die parodontale Destruktion, gelockerten Zähne möglich. Trotz der hohen Bruchfestigkeit besitzen die Biomaterialien einen dem Desmodont vergleichbaren E-Modul. Der Erhalt der physiologischen Eigenbeweglichkeit des Zahnes kann somit gewährleistet werden. Durch eine ausreichende Biegefestigkeit wird die Gefahr einer Fraktur der Materialien minimiert.

Die Auswertung des MTT-Tests sowie des Live/dead-Tests ergab keine Beeinflussung der Vitalität der Zellen. Von einem zytotoxischen Potential kann folglich nicht ausgegangen werden. Auch die Zugabe des Photosensitizers beeinflusste diese Ergebnisse nicht negativ, weshalb sich kein nachteiliger Effekt auf eine Neuapposition alveolären Knochens annehmen lässt.

Der im Rahmen der antibakteriellen photodynamischen Therapie eingesetzte Photosensitizer mTHPC erzielte in Kombination mit den Biomaterialien hervorragende Suppressionseffekte auf die Spezies *P. gingivalis* und *E. faecalis*. Einem Weiterbestehen der Infektion sowie der fortschreitenden parodontalen Destruktion durch *P. gingivalis* könnte somit suffizient entgegengewirkt und ein Reattachement erreicht werden. Durch die lokale Anwendung ergeben sich keine systemischen Belastungen des Organismus. Auch die Gabe immer häufiger umstrittener systemischer Antibiotika könnte so zukünftig reduziert werden.

Die Evaluation dieser Erfolg versprechenden Ergebnisse sollte zeitnah in vivo erfolgen.

8 Literaturverzeichnis

- Aalam, A. A., H. Nowzari (2007). "Mandibular cortical bone grafts part 1: anatomy, healing process, and influence factors." Compend Contin Educ Dent. 28(4): 206-212
- Aboudzadeh, N., M. Imani, M. A. Shokrgozar, A. Khavandi, J. Javadpour, Y. Shafieyan, M. Farokhi (2010). "Fabrication and characterization of polx(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds for bone tissue regeneration." J Biomed Mater Res A. 94(1): 137-145
- Ardila, C. M., M. I. Granda, I. C. Gzuman (2010). "Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients." J Periodont Res, 45(4): 557-563
- Armitage, G. C. (1999). "Development of a classification system for periodontal diseases and conditions." Ann Periodontol. 4(1): 1-6
- Ata-Ali, J., M. E. Candel-Marti, A. J. Flichy-Fernandez, D. Penarrocha-Oltra, J. F. Balaguer-Martinez, M. P. Diago (2011). "Peri-implantitis: associated microbiota and treatment." Med Oral Patol Cir Bucal 16(7): 937-943
- Ayobian-Markazi, N., T. Fouroutan, M. J. Kharazifar (2012). "Comparison of cell viability and morphology of a human osteoblast-like cell line (SaOS-2) seeded on various bone substitute materials: an in vitro study." Dent Res J (Isfahan). 9(1): 86-92
- Azarpazhooh, A., P.S. Shah, H. C. Tenenbaum, M. B. Goldberg (2010). "The effect of photodynamic therapy for periodontitis: a systematic review and meta-analysis." J Periodontol 81(1): 4-14
- Balaei-Gajan, E., A. Shirmohammadi, R. Abasov, M. Agazadeh, M. Faramarzie (2010). "Detection of enterococcus faecalis in subgingival biofilm of patients with chronic refractory periodontitis." Med Oral Patol Oral Cir Bucal 15(4): e667-70
- Boix, D., P. Weiss, O. Gauthier, J. Guicheux, J. M. Bouler, P. Pilet, G. Daculsi, G. Grimandi (2006). "Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction: a study in dog." J Mater Sci Mater Med. 17(11): 1145-1152
- Bonzani, I. C., R. Adhikari, S. Houshyar, R. Mayadunne, P. Gunatillake, M. M. Stevens (2007). "Synthesis of two-component injectable polyurethanes for bone tissue engineering." Biomaterials 28(3): 423-433
- Brugnami, F., A. Caiazzo, C. Leone (2009). "Local intraoral autologous bone harvesting for dental implant treatment: alternative sources and criteria of choice." Keio J Med. 58(1): 24-28
- Burguera, E. F., H. H. K. Xu, L. Sun (2008). "Injectable calcium phosphate cement: effects of powder-to-liquid ratio and needle size." J Biomed Mater Res B Appl

- Biomater. 84(2): 493-502
- Calderon, P.d.S., E. M. Kogawa, J. R. P. Lauris, P. C. R. Conti (2006). "The influence of gender and bruxism on the human maximum bite force." J Appl Oral Sci 14(6): 448-53
- Chen, F. M., J. Zhang, M. Zhang, Y. An, F. Chen, Z. F. Wu (2010). "A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine." Biomaterials 31(31): 7892-927
- Chitsazi, M.-T., A. Shirmohammadi, M. Faramarzie, R. Pourabbas, A. naser Rostamzadeh (2011). "A clinical comparison of nano-crystalline hydroxylapatite (Ostim) and autogenous bone graft in the treatment of periodontal intrabony defects." Med Oral Patol Oral Cir Bucal 16(3): 448-453
- Choi, Y.-H., R. E. Mc Keown, E. J. Kayer-Davis, A. D. Liese, K.-B. Song, A. T. Merchant (2011). "Association between periodontitis and impaired fasting glucose and diabetes." Diabetes care 34(2): 381-386
- De Almeida, J. M., L. H. Theodoro, A. F. Bosco, M. J. H. Nagata, M. Oshiiwa, V. G. Garcia (2008). "In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations." J Periodontol 79(6): 1081-1088
- Dechow P. C., G. A. Nail, C. L. Schwartz-Dabney, R. B. Ashman (1993). "Elastic properties of human supraorbital and mandibular bone." American Journal Of Physical Anthropology 90(3): 291-306
- De Oliveira, R. R., A. B. Novas Jr, G. P. Garlet, R. F. de Souza, M. Taba Jr, S. Sato, S. L. S. de Souza, D. B. Palioto, M. F. M. Grisi, M. Feres (2011). "The effect of a single episode of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of experimental periodontitis. Microbiological profile and cytokine pattern in the dog mandible." Lasers Med Sci 26(3): 359-367
- De Olivera, R. R., H. O. Schwartz-Filho, A. B. Novas Jr, G. P. Garlet, R. F. de Souza, M. Taba Jr, S. L. S. de Souza, F. J. Ribeiro (2009). "Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results." J Periodontol 80(1): 98-105
- Dimitriou, R., E. Jones, D. McGonagle, P. V. Giannoudis (2011). "Bone regeneration: current concepts and future directions." BMC Med. 9:66
- Dulcic, N., J. Panduric, S. Kraljevic, T. Badel, R. Celic (2003). "Incidence of temporomandibular disorders at tooth loss in the supporting zones." Coll Antropol. 27(2): 61-67
- Eduardo, C. d. P., P. M. de Freitas, M. Esteves-Oliveira, A. C. C. Aranha, K. Müller Ramalho, A. Simoes, M. S. Bello-Silva, J. Tuner (2010). "Laser phototherapy in the treatment of periodontal disease. A review." Lasers Med Sci 25(6): 781-792
- Ehmke, B., T. F. Fleming (1999). "Knochen und Knochenersatzmaterialien zur parodontalen Regeneration." Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK

- Emingil, G., E. Buduneli, A. Aliyev, A. Akilli, G. Atilla (2000). "Association between periodontal disease and acute myocardial infarction." J Periodontol 71:1882-1886
- Endres, S., M. Kratz, M. Heinz, C. Herzberger, S. Reichel, T. von Garrel, L. Gotzen, A. Wilke (2005). "Biocompatibility testing of different sterilised or disinfected allogeneous bone grafts in comparison to the gold standard of autologous bone grafts-an in vitro analysis of Immunomodulation." Z Orthop 143(6): 660-668
- Engelhardt, V., B. Krammer, K. Plaetzer (2010). "Antibacterial photodynamic therapy using water-soluble formulations of hypericin or mTHPC is effective in inactivation of *Staphylococcus aureus*." Photochem. Photobiol. Sci. 9(3): 365-369
- Fatimi, A., J. F. Tassin, M. A. Axelos, P. Weiss (2010). "The stability mechanisms of an injectable calcium phosphate ceramic suspension." J Mater Sci Mater Med. 21(6): 1799-1809
- Geng, F., L. L. Tan, X. X. Jin, J. Y. Yang, K. Yang (2009). "The preparation, cytocompatibility, and in vitro biodegradation study of pure beta-TCP on magnesium." J Mater Sci Mater Med. 20(5): 1149-1157
- Ghanaati, S., M. Barbeck, R. Detsch, U. Deisinger, U. Hilbig, V. Rausch, R. Sader, R. E. Unger, G. Ziegler, C. J. Kirkpatrick (2012). "The chemical composition of synthetic bone substitutes influences tissue reactions in vivo: histological and histomorphometrical analysis of the cellular inflammatory response to hydroxylapatite, beta-tricalcium phosphate and biphasic calcium phosphate ceramics." Biomed Mater 7(1): 1-14
- Giannoudis, P. V., H. Dinopoulos, E. Tsiridis (2005). "Bone substitutes: An update." Injury, Int. J. Care Injured 36(3): 520-527
- Goncalves, L.d. S., R. Souto, A. P. V. Colombo (2009). "Detection of *helicobacter pylori*, *enterococcus faecalis* and *pseudomonas aeruginosa* in the subgingival biofilm of HIV-infected subjects undergoing HAART with chronic periodontitis." Eur J Clin Microbiol Infect Dis 28(11):1335-1342
- Greenberg, J. A., M. J. Wiltz, R. A. Kraut (2012). "Augmentation of the anterior maxilla with intraoral onlay grafts for implant placement." Implant Dent. 21(1): 21-24
- Grisdale, J. (1999). "The clinical applications of synthetic bone alloplast." J Can Dent Assoc. 65(10): 559-562
- Gupta, J., A. S. Gill, P. Sikri (2011). "Evaluation of the relative efficacy of an alloplast used alone and in conjunction with an osteoclast inhibitor in the treatment of human periodontal intrabony defects: a clinical and radiological study." Indian J Dent Res. 22(2): 225-231
- Hanes, P. J. (2007). "Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects." Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 19(4): 499-512

- Ho, S. P., M. P. Kurylo, T. Fong, S. Lee, H. D. Wagner, M. Ryder, G. W. Marshall (2010). "The biomechanical characteristics of the bone-periodontal ligament-cementum complex." Biomaterials 31(25):6635-6646
- Hu, J., Y. Hou, H. Park, M. Lee (2012). "Beta-tricalcium phosphate particles as a controlled release carrier of osteogenic proteins for bone tissue engineering." J Biomed Mater Res A. 100(7): 1680-1686
- Inayat-Hussain, S. H., N. F. Rajab, H. Roslie, A. A. Hussin, A. M. Ali, B. O. Annuar (2004). "Cell death induced by hydroxylapatite on L929 fibroblast cells." Med J Malaysia 59: 176-177
- Irinakis, T. (2006). "Rationale for socket preservation after extraction of a single-rooted tooth when planning for future implant placement." J Can Dent Assoc. 72(10): 917-922
- Izumi, Y., A. Aoki, Y. Yamada, H. Kobayashi, T. Iwata, T. Akizuki, T. Suda, S. Nakamura, N. Wara-Aswapati, M. Ueda, I. Ishikawa (2011). "Current and future periodontal tissue engineering." Periodontology 2000 56(1):166-187
- Jadhav, S., V. Hedge, G. Aher, N. Fajandar (2011). "Influence of light curing units on failure of direct composite restorations." J Conserv Dent. 14(3): 225-227
- Jandt, K. D., B. W. Sigusch (2009). "Future perspectives of resin-based dental Materials." dent mater 25(8): 1001-1006
- Jepsen, S., M. Kebschull, J. Deschner (2011). "Wechselwirkungen zwischen Parodontitis und systemischen Erkrankungen." Bundesgesundheitsblatt 9/10 2011
- Kasaj, A., C. Reichert, H. Götz, B. Röhrig, R. Smeets, B. Willershausen (2008). "In vitro evaluation of various bioabsorbable and nonresorbable barrier membranes for guided tissue regeneration." Head & Face Medicine 4. 22
- Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, Bundeszahnärztekammer, Hrsg. 2006, Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV), Leverkusen, Druckhaus Boeken
- Kim, J. H., J. H. Oh, I. Han, H.-S. Kim, S. W. Chung (2011). "Grafting using injectable calcium sulfate in bone tumor surgery: comparison with demineralized bone matrix-based grafting." Clinics in Orthopedic Surgery 3(3): 191-201
- Kim, T. S., A. Schenk, D. Lungenau, P. Reitmeir, P. Eickholz (2007). "Nonsurgical and surgical periodontal therapy in single-rooted teeth." Clin Oral Investig. 11(4): 391-399
- Koc, D., A. Dogan, B. Bek (2010). "Bite force and influential factors on bite force measurements: A Literature Review." Eur J Dent 4(2): 223-232

- Koleganova, V. A., S. M. Bernier, S. J. Dixon, A. S. Rizkalla (2006). "Bioactive glass/polymer composite materials with mechanical ptoperties matching those of cortical bone." Inc. J Biomed Mater Res 77(3): 572-579
- Kolk, A., J. Handschel, W. Drescher, D. Rothamel, F. Kloss, M. Blessmann, M. Heiland, K. D. Wolff, R. Smeets (2012). "Current trends and future perspectives of bone substitute materials-from space holders to innovative biomaterials." J Craniomaxillofac Surg. (Epub ahead of print)
- Koolstra, J. H. (2002). "Dynamics of the human masticatory system." Crit Rev Oral Bio Med 13(4): 366-376
- Kömerik, N., H. Nakanishi, A. J. Mac Robert, B. Henderson, P. Speight, M. Wilson (2002). "In vivo killing of porphyromonas gingivalis by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model." Antimicrobial Agents and Chemotherapy 47(3): 932-940
- König, K., M. Teschke, B. W. Sigusch, E. Glockmann, S. Eick, W. Pfister (2000). "Red light kills bacteria via photodynamic action", Cell Mol Biol 46(7): 1297-303
- Kranz, S., A. Guellmar, A. Völpel, B. Gitter, V. Albrecht, B. W. Sigusch (2011). "Photodynamic supression of enterococcus faecalis using the photosensitizer mTHPC." Lasers in Surgery an Medicine 43(3): 241-248
- Lee, S.-B., U.-W. Jung, Y. Choi, O. Jamiyandori, C.-S. Kim, Y.-K. Lee, J.-K. Chai, S.-H. Choi (2010). "Investigation of bone formation using calcium phosphate glass cement in beagle dogs." J Periodontal Implant Sci. 40(3): 125-131
- Liu, Q., T. Douglas, C. Zamponi, S. T. Becker, E. Sherry, S. Sivananthan, F. Warnke, J. Wiltfang, P. H. Warnke (2011). "Comparison of in vitro biocompatibility of NanoBone® and BioOss® for human osteoblasts." Clin. Oral Impl. Res. 22(11): 1259-1265
- Loomer, P. M., B. W. Sigusch, B. Sukkhu, R. P. Ellen, H. C. Tenenbaum (1994). "Direct effects of metabolic products and sonicated extracts of porphyromonas gingivalis 2561 on osteogenesis in vitro", Infect Immun 62(4): 1289-1297
- Lui, J., E. F. Corbet, I. Jin (2011). "Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis." J Periodont Res 46(1): 89-96
- Malik, R., A. Manocha, D. K. Suresh (2010). "Photodynamic therapy-a strategic review." Indian J Dent Res 21(2): 285-291
- Matassi, F., L. Nistri, D. C. Paez, M. Innocenti (2011). "New biomaterials for bone regeneration." Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism 8(1): 21-14
- Meffert, R. M. (1996). "Periodontitis vs periimplantitis: The same disease? The same treatment?" Crit Rev Oral Biol Med 7(3): 278-291

- Meka, A., V. Bakthavatchalu, S. Sathiskumar, M. C. Lopez, R. K. Verma, S. M. Wallet, I. Bhattacharya, B.F. Boyce, M. Handfield, R. J. Lamont, H. V. Baker, J. L. Ebersole, L. Kesavalu (2010). "Porphyromonas gingivalis infection-induced tissue and bone transcriptional profiles." Molecular Oral Microbiology 25(1): 61-74
- Meisel, P., T. Kocher (2005). "Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art." Biology 79(2): 159-170
- Mettraux, G., J. Hüsler (2011). "Der Einsatz der transgingivalen, antibakteriellen Fotodynamischen Therapie (PDT) zusätzlich zum Scaling und Root Planing." Schweiz Monatsschr Zahnmed 121(1): 53-60
- Mota, J., N. Yu, S. G. Caridade, G. M. Luz, M. E. Gomez, R. L. Reis, J. A. Jansen, X. F. Walboomers, J. F. Mano (2012). "Chitosan/bioactive glass nanoparticle composite membranes for periodontal regeneration." Acta Biomater. 8(11): 4713-4780
- Mumcu, E., A. Cilingir, B. Gencil, T. Sülün (2011). "Flexural properties of a light-cure and self-cure denture base materials compared to conventional alternatives." J Adv Prosthodont. 3(3): 136-139
- Nagasawa, T., M. Noda, S. Katagiri, M. Takaichi, Y. Kawaguchi, T. Tagami, Y. Furuichi, Y. Izumi (2010). "Relationship between periodontitis an diabetes-importance of a clinical study to prove the vicious cycle." Inter Med 49(10) :881-885
- Nandi, S. K., S. Roy, P. Mukherjee, B. Kundu, D. K. De, D. Basu (2010). "Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review." Indian J Med Res 132: 15-30
- Niu, X., Y. Fan, X. Liu, X. Li, P. Li, J. Wang, Z. Sha, Q. Feng (2011). "Repair of bone defect in femoral condyle using microencapsulated chitosan,nanohydroxylapatite/collagen and poly(L-lactide)-based microsphere-scaffold delivery system." Artif Organs 35(7): 119-128
- Nomura, T., J. L. Katz, M. P. Poers, C. Saito (2005). "Evaluation of the micromechanical elastic properties of potential bone-graftin-materials." Appl Biomater 73(1): 29-34
- Novas Jr, A. B., H. Schwartz-Filho, R. R. de Oliveira, M. Feres, S. Sato, L. C. Figueiredo (2011). "Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: microbiological profile." Lasers Med Sci 27(2): 389-395
- Oka, H., T. Yamamoto, K. Saratani, T. Kawazone (1989). "Application of mechanical mobility of periodontal tissues to tooth mobility examination." Med. & Biol. Eng. & Comp. 27(1): 75-81
- Padilla, C., O. Lobos, E. Hubert, C. Gonzalez, S. Matus, M. Pereira, S. Hasbun, C. Descouvieres (2006). "Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated

- from patients with chronic periodontitis." J Periodontol Res. 41(4): 350-353
- Page, R. C. (2004). "The microbiological case for adjunctive therapy for periodontitis." J Int Acad Periodontol 6(4): 143-149
- Papastamou, V., T. Nietzsche, H. Staudte, G. Orellana, B. W. Sigusch (2010). "Photoinactivation of *F. nucleatum* and *P. gingivalis* using the ruthenium-based RD3 sensitizer and a conventional halogen lamp." archives of oral biology 56(3): 264-268
- Parkash, S., J. Sunitha, S. Abid (2010). "Evaluation of HTR polymer (Biopiant® HTR®) as a bone graft material in the treatment of interproximal vertical bony defects: a clinical and radiological study." Indian J Dent Res. 21(2): 179-184
- Pfitzner, A., B. W. Sigusch, V. Albrecht, E. Glockmann (2004). "Killing of periodontopathogenetic bacteria by photodynamic therapy." J Periodontol 75(10): 1343-1349
- Pradeep, A. R., P. Hadge, P. Arjun Raju, S. R. Shetty, K. Shareef, C. N. Guruprasad (2010). "Periodontitis as a risk factor for cerebrovascular accident: a case-control study in the indian population." J Periodontol Res. 45(2): 223-228
- Rai, B., J. Kaur, S. C. Anad (2010). "Possible relationship between periodontitis and dementia in a north indian old age population: a pilot study." Gerodontology 29(2): e200-205
- Rajesh, S., E. Koshi, K. Philip, A. Mohan (2011). "Antimicrobial photodynamic therapy: An overview." J Indian Soc Periodontol. 15(4): 323-327
- Rajesh, J. B., K. Nandakumar, H. K. Varma, M. Komath (2009). "Calcium phosphate cement as a „barrier-graft“ for the treatment of human periodontal intraosseous defects." Indian Journal of Dental Research 20(4): 471-479
- Regnault, W. F., T. B. Icenogle, J. M. Antonucci, D. Skrtic (2008). "Amorphous calcium phosphate/urethane methacrylate resin composites. A physicochemical characterization." J Mater Sci Mater Med. 19(2):507-515
- Ren, J., P. Zhao, T. Ren, S. Gu, K. Pan (2008). "Poly(D,L-lactide)/nano-hydroxylapatite composite scaffolds for bone tissue engineering and biocompatibility evaluation." J Mater Sci Mater Med. 19(3): 1075-1082
- Rühling, A., J. Fanghänel, M. Houshmand, A. Kuhr, P. Meisel, C. Schwahn, T. Kocher (2010). "Photodynamic therapy of persistent pockets in maintenance patients-a clinical study." Clin Oral Invest 14(6): 637-644
- Salgado, A. J., O. P. Coutinho, R. L. Reis (2004). "Bone tissue engineering: state of the art and future trends." Macromol. Biosci. 4(8): 743-765
- Sanchez-Garces, M. A., C. G. Escoda (2004). "Periimplantitis." Med Oral Patol Oral Chir Bucal 9: 69-74
- Scheller, E. L., P. H. Krebsbach, D. H. Kohn (2009). "Tissue engineering: state of the

- art in oral rehabilitation." J Oral Rehabil. 36(5): 368-389
- Sela, M. N., D. Steinberg, A. Klinger, A. A. Krausz, D. Kohavi (1999). "Adherence of periodontopathic bacteria to bioabsorbable and non-absorbable barrier membranes in vitro." Clin Oral Impl Res 10(6): 445-452
- Senge, M. O., J. C. Brandt (2011). "Temoporfin (Foscan, 5,10,15,20-Tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin)-a second-generation photosensitizer." Photochemistry and Photobiology 87(6): 1240-1296
- Serino, G., W. Rao, G. Iezzi, A. Piatelli (2007). "Polylactide and polyglycolide sponge used in human extraction sockets: bone formation following 3 months after its application." Clin. Oral Impl. Res 19(1): 26-31
- Shankar, R., D. Singh, S. Shaikh, G. Singh, A. Yadav, R. Jain (2011). "Bone regeneration in osseous defects using hydroxylapatite graft and the extent of ossification in osseous defects treated without grafts: a comparative evaluation." J. Maxillofac Oral Surg. 10(2): 123-126
- Shergafi, H., O. Reikeras (2009). "Review article: bone transplantation and immune response." Journal of Orthopaedic Surgery 17(2): 206-211
- Shin, U. S., I.-K. Yoon, G.-S. Lee, W.-C. Jang, J. C. Knowles, H.-W. Kim (2011). "Carbon nanotubes in nanocomposites and hybrids with hydroxylapatite for bone replacements." J Tissue Eng. 674287 Epub
- Sideridou, J. D., M. M. Karabela, D. N. Bikiaris (2007). "Aging studies of light cured dimethacrylate-based dental resins and a resin composite in water or ethanol/water." Dent Mater. 23(9): 1142-1149
- Sigusch, B. W., M. Beier, G. Klinger, W. Pfister, E. Glockmann (2001). "A 2-step non-surgical procedure and systemic antibiotics in the treatment of rapidly progressive periodontitis." J Periodontol. 72(3): 275-283
- Sigusch, B. W., M. Engelbrecht, A. Völpe, A. Holletschke, W. Pfister, J. Schütze (2010). "Full-mouth antimicrobial photodynamic therapy in fusobacterium nucleatum-infected periodontitis patients." J Periodontol 81(7): 975-981
- Sigusch, B. W., A. Güntsch, A. Pfitzner, E. Glockmann (2005). "Enhanced root planing and systemic metronidazole administration improve clinical and microbiological outcomes in a two-step procedure." J Periodontol 76(6): 991-997
- Sigusch, B. W., A. Pfitzner, V. Albrecht, E. Glockmann (2005). "Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model." J Periodontol. 76(7): 1100-5
- Sugawara, A., K. Fujikawa, S. Hirayama, S. Takagi, L. C. Chow (2010). "In vivo characteristics of premixed calcium phosphate cements when implanted in subcutaneous tissues and periodontal bone defects." J Res Natl Inst Stand Technol. 115(4): 227-290

- Sugawara, A., K. Fujikawa, S. Takagi, L. C. Chow (2008). "Histological analysis of calcium phosphate bone grafts for surgically created periodontal bone defects in dogs." Dent Mater J. 27(6): 787-794
- Sukumar, S., I. Drizhal (2008). "Bone grafts in periodontal therapy." Acta Medica (Hradec Kralove) 51(4): 203-207
- Sun, J., A. Sundsfjord, X. Song (2012). "Enterococcus faecalis from patients with chronic periodontitis: virulence and antimicrobial resistance traits and determinants." Eur J Clin Microbiol Infect Dis 31(3): 267-272
- Swetha, M., K. Sahiti, A. Moorthi, N. Srinivasan, K. Ramasamy, N. Selvamurugan (2010). "Biocomposites containing natural polymers and hydroxylapatite for bone tissue engineering." International Journal of Biological Macromolecules 47(1): 1-4
- Szucs, A., Z. Suba, K. Martonffy, K. Hrbak, S. Gyulai-Gaal, F. Dori, G. Szabo (2000). "The value of beta-tricalcium-phosphate (CERASORB) in preprosthetic surgery." Fogorv Sz. 93(2): 45-52
- Tallents, R. H., D.J. Macher, S. Kyrkanides, R. W. Katzberg, M. E. Moss (2002). "Prevalence of missing posterior teeth and intraarticular temporomandibular disorders." J Prosthet Dent. 87(1): 45-50
- Takanashi, K., M. Kishi, K. Okuda, K. Ishihara (2004). "Colonization by Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia from teeth to osseointegrated implant regions." Bull. Tokyo dent. Coll. 45(2): 77-85
- Takasaki, A. A., A. Aoki, K. Mizutani, F. Schwarz, A. Sculean, C.-Y. Wang, G. Koshy, G. Romanos, I. Ishikawa, Y. Izumi (2009). "Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases." Periodontology 2000, 51:109-140
- Tanaka, J., T. Hashimoto, J. W. Stansbury, J. M. Antonucci, K. Suzuki (2001). "Polymer properties on resins composed of UDMA and methacrylates with the carboxyl group." Dental Materials Journal 20(3): 206-215
- Tanne K., S. Yoshida, T. Kawata, A. Sasaki (1998). "An evaluation of the biomechanical response of the tooth and periodontium to orthodontic forces in adolescent and adult subjects." British Journal of Orthodontics 25(2): 109-115
- Van Eijden, T. M. G. J. (2000). "Biomechanics of the mandible." Crit Rev Oral Biol Med 11(1):123-136
- Van Landuyt, K. L., J. Snauwaert, J. De Munck, M. Peumans, Y. Yoshida, A. Poitevin, E. Countinho, K. Suzuki, P. Lambrechts, B. Van Meerbeek (2007). "Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives." Biomaterials. 28(26): 3757-3785

- Verdugo, F., A. Castillo, K. Simonian, P. Russo, A. Daddona, L. Raffaelli, M. D.Moragues, G. Quindos, J. Ponton (2012). "Periodontopathogen and Epstein-barr virus contamination affects transplanted bone volume in sinus augmentation." J Periodontol 83(2): 162-173
- Wang, M. Q., F. Xue, J. J. He, J. H. Chen, C. S. Chen, A. Raustia (2009). "Missing posterior teeth and risk of temporomandibular disorders." J Dent Res 88(10): 942-945
- Wilson, M. (2004). "Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections." Photochem. Photobiol. Sci. 3(5): 412-418
- Wisniewska-Jarosinska, M., T. Poplawski, C. J. Chojnacki, E. Pawlowska, R. Krupa, J. Szczepanska, J. Blasiak (2011). "Independent and combined cytotoxicity and genotoxicity of triethylene glycol dimethacrylate and urethane dimethacrylate." Mol Biol Rep 38(7): 4603-4611
- Xiong, X., K. E. Elkind-Hirsch, S. Vastardis, R. L. Delarosa, G. Pridjian, P. Buenkes (2009). "Periodontal disease is associated with gestational diabetes mellitus: a case control study." J Periodontol 80(11): 1742-1749
- Xu, H. H. K., L. E. Carey, C. G. Simon Jr., S. Takagi, L. C. Chow (2007). "Premixed calcium phosphate cements: Synthesis, physical properties, and cell cytotoxicity." Dent Mater. 23(4): 433-441
- Xu Y, Wei W (2001). "A comparative study of systemic subantimicrobial and topical treatment of rapidly progressive periodontitis of rats." J Periodontol 72:275-83
- Yadav, V. S., S. C. Narula, R. K. Shamra, S. Tewari, R. Yadav (2011). "Clinical evaluation of guided tissue regeneration with autogenous bone or autogenous bone mixed with bioactive glass in intrabony defects." Journal of Oral Science 53(4): 481-488
- Yaffe, A., N. Fine, I. Binderman (1994). "Regional accelerated phenomenon in the mandible following mucoperiosteal flap surgery." J Periodontol. 65(1): 79-83
- Yamada, M., T. Ueno, H. Minamikawa, N. Sato, F. Iwasa, N. Hori, T. Ogawa (2010). "N-acetyl cysteine alleviates cytotoxicity of bone substitutes." J Dent Res. 89(4): 411-416
- Yamada, S., S. Kobayashi (2009). "Effects of strain rate on the mechanical properties of tricalcium phosphate/poly(L-lactide) composites." Mater Sci: Mater Med 20(1): 67-74
- Yanos-Scholl, L., J. A. Jacobson, G. Bradica, A. L. Lerner, R. J. O'Keefe, E. M. Schwarz, M. J. Zuscik, H. A. Award (2010). "Evaluation of dense polylactic acid/beta-tricalcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering." J Biomed Mater Res A. 95(3): 717-726

- Yao, Z., J. Yang, L. Pan, Z. Chen (2009). "Periodontal treatment: potential to reduce cardiovascular morbidity and/or mortality." Medical Hypotheses 73(1): 33-35
- Youan, H., H. Fernandes, P. Habibovic, J. de Boer, A. M. Barradas, A. de Ruiter, W. R. Walsh, C. A. van Blitterswijk, J. D. de Bruijn (2010). "Osteoinductive ceramics as a synthetic alternative to autologous bone grafting." Proc Natl Acad Sci USA 107(31): 13614-13619
- Zhang, Z., X. Feng, J. Mao, J. Xiao, C. Liu, J. Qiu (2009). "In vitro cytotoxicity of a novel injectable and biodegradable alveolar bone substitute." Biochem Biophys Res Commun. 379(2): 557-561
- Zerbo, I. R., A. L. Bronckers, G. L. de Lange, G. J. van Beek, E. H. Burger (2001). "Histology of human alveolar bone regeneration with a porous tricalcium phosphate. A report of two cases." Clin Oral Implants Res. 12(4): 379- 384
- Ziegler A., L. Keilig, A. Kavarizadeh, A. Jäger, C. Bourauel (2005). "Numerical simulation of the biomechanical behaviour of multi-rooted teeth." European Journal of Orthodontics 27(4): 333-339

9. Anhang

9.1 Signifikanzen der Testungen zu den biomechanischen Eigenschaften

9.1.1 Bruchkraft

Biomaterial	Mittelwert in kN	Standardabw.	p-Wert
BioM1	8,47	4,554	1,00
BioM2	10,146	3,937	
BioM1	8,47	4,554	1,00
BioM1 + PS	6,11	1,706	
BioM2	10,146	3,937	0,29
BioM2 + PS	14,551	10,195	
BioM1 + PS	6,11	1,706	0,02
BioM2 + PS	14,551	10,195	

9.1.2 E-Modul

Biomaterial	Mittelwert in MPa	Standardabw.	p-Wert
BioM1	519,881	214,754	0,05
BioM2	335,187	100,643	
BioM1	519,881	214,754	0,02
BioM1 + PS	318,853	70,682	
BioM2	335,187	100,643	1,00
BioM2 + PS	406,231	268,608	
BioM1 + PS	318,853	70,682	1,00
BioM2 + PS	406,231	268,608	

9.1.3 Biegefestigkeit

Biomaterial	Mittelwert in N/mm²	Standardabw.	p-Wert
BioM1	29,459	4,262	0,00
BioM2	9,964	5,776	
BioM1	29,459	4,262	0,03
BioM1 + PS	22,813	7,473	
BioM2	9,964	5,776	1,00
BioM2 + PS	7,584	7,177	
BioM1 + PS	22,813	7,473	0,00
BioM2 + PS	7,584	7,177	

9.2 Signifikanzen der Testungen zur antibakteriellen Wirksamkeit

9.2.1 *P. gingivalis* (0 J/cm²)

Biomaterial	Mittelwert in KBE	Standardabw.	p-Wert
BioM1	3788	1328	0,03
BioM2	157083	16627	
BioM1	3788	1328	0,03
BioM1 + PS	395	105	
BioM2	157083	16627	0,03
BioM2 + PS	2399	3382	
BioM1 + PS	395	105	1,00
BioM2 + PS	2399	3382	

9.2.2 P. gingivalis (1 x 100 J/cm²)

Biomaterial	Mittelwert in KBE	Standardabw.	p-Wert
BioM1	3713	1803	0,03
BioM2	88667	49295	
BioM1	3713	1803	0,03
BioM1 + PS	35	39	
BioM2	88667	49295	0,03
BioM2 + PS	0	0	
BioM1 + PS	35	39	0,11
BioM2 + PS	0	0	

9.2.3 P. gingivalis (2 x 100 J/cm²)

Biomaterial	Mittelwert in KBE	Standardabw.	p-Wert
BioM1	3550	1072	0,03
BioM2	83667	37434	
BioM1	3550	1072	0,03
BioM1 + PS	3	5	
BioM2	83667	37434	0,03
BioM2 + PS	0	0	
BioM1 + PS	3	5	0,69
BioM2 + PS	0	0	

9.2.4 E. faecalis (0 J/cm²)

Biomaterial	Mittelwert in KBE	Standardabw.	p-Wert
BioM1	505000	192224	0,89
BioM2	462500	68130	
BioM1	505000	192224	0,89
BioM1 + PS	452500	72629	
BioM2	462500	68130	0,20
BioM2 + PS	391250	87023	
BioM1 + PS	452500	72629	0,34
BioM2 + PS	391250	87023	

9.2.5 E. faecalis (1 x 100 J/cm²)

Biomaterial	Mittelwert in KBE	Standardabw.	p-Wert
BioM1	441250	135792	0,89
BioM2	405000	139463	
BioM1	441250	135792	0,03
BioM1 + PS	104375	55144	
BioM2	405000	139463	0,03
BioM2 + PS	36792	12555	
BioM1 + PS	104375	55144	0,03
BioM2 + PS	36792	12555	

9.2.6 E. faecalis (2 x 100 J/cm²)

Biomaterial	Mittelwert in KBE	Standardabw.	p-Wert
BioM1	456250	46435	0,69
BioM2	432000	80798	
BioM1	456250	46435	0,03
BioM1 + PS	92,5	67	
BioM2	432000	80798	0,03
BioM2 + PS	250	107	
BioM1 + PS	92,5	67	0,06
BioM2 + PS	250	107	

9.3 Tabellarischer Lebenslauf

Name

Stefan Dietsch

Geburtsdatum

30. 10. 1986

Geburtsort

Bad Salzungen

Eltern

Dr. Lutz Dietsch, Zahnarzt,
Janet Dietsch, Bürokauffrau

Geschwister

ein jüngerer Bruder, Sebastian Dietsch

Familienstand

ledig

Schulische Ausbildung

1993-1997	Grundschule Barchfeld
1997-2005	Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife, Note 1,6 „Herzog-Georg-Gymnasium“ Bad Liebenstein

Dienst

2005-2006	Zivildienst Rehabilitationsklinik für Kinder und Jugendliche „Charlottenhall“ in Bad Salzungen
-----------	--

Berufliche Ausbildung

2006-2012	Studium der Zahnmedizin „Friedrich-Schiller-Universität“ Jena
01/2012	Abschluss des Studiums, Prädikat gut, Approbation

9.4 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich bei der Erarbeitung der Dissertation vielfältig unterstützt haben.

Besonderer Dank gebührt Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. Bernd W. Sigusch für die Bereitstellung des Themas und die zahlreichen produktiven Gespräche während der Testungen und der Erstellung des Manuskripts.

Großer Dank gilt den Mitarbeitern des Bereichs Biomaterialien der Innovent Technologieentwicklung e.V., welche mir die Versuchsdurchführung zur Ermittlung der biomechanischen Eigenschaften ermöglicht haben. Herrn Dr. Albrecht Berg danke ich dabei ganz besonders für seine stetige Diskussions- und Hilfsbereitschaft.

Für die Hilfe bei der Lösung wissenschaftlicher Probleme sowie die Unterstützung bei der Organisation danke ich sehr Frau Dipl.-Ing. Andrea Völpel, wie auch allen weiteren Mitarbeitern des wissenschaftlichen Labors der Poliklinik für konservierende Zahnheilkunde am Universitätsklinikum Jena.

Besonderer Dank gebührt ebenfalls meinen Eltern und meinem Bruder, die mich während des gesamten Studiums stets unterstützten und mir bei der Erstellung des Manuskripts vielfältige Anregungen gaben.

9.5 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Univ.-Prof. Dr. Dr. B. W. Sigusch

Dipl.-Ing. A. Völpel

Dr. A. Berg

Dr. L. Dietsch,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfungen eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Barchfeld, 13. 02. 2013

Stefan Dietsch